

(19) 世界知的所有権機関  
国際事務局



(43) 国際公開日  
2003 年 10 月 2 日 (02.10.2003)

PCT

(10) 国際公開番号  
WO 03/080592 A1

(51) 国際特許分類<sup>7</sup>: C07D 309/38, A61K 31/366, A61P 9/10, 9/12, 11/00, 13/12, 17/00, 17/02, 17/14, 29/00, 43/00

特願2002-88575 2002 年 3 月 27 日 (27.03.2002) JP  
特願2002-290843 2002 年 10 月 3 日 (03.10.2002) JP

(21) 国際出願番号: PCT/JP03/03392

(71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 住友化学工業株式会社 (SUMITOMO CHEMICAL COMPANY, LIMITED) [JP/JP]; 〒541-8550 大阪府 大阪市 中央区 北浜四丁目 5 番 3 3 号 Osaka (JP).

(22) 国際出願日: 2003 年 3 月 20 日 (20.03.2003)

(25) 国際出願の言語: 日本語

(72) 発明者; および

(26) 国際公開の言語: 日本語

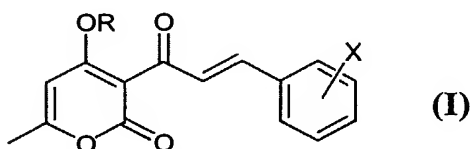
(75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 高橋 淳也 (TAKAHASHI, Junya) [JP/JP]; 〒666-0262 兵庫県 川辺郡 猪名川町 伏見台 4-3-8 4 Hyogo (JP). 東 清史 (HIGASHI, Kiyoshi) [JP/JP]; 〒542-0012 大阪府 大阪市 中央区 谷町 6-2-3 3-7 0 6 Osaka (JP).

(30) 優先権データ:  
特願2002-88574 2002 年 3 月 27 日 (27.03.2002) JP

[続葉有]

(54) Title: 2-PYRONE COMPOUNDS AND USE THEREOF

(54) 発明の名称: 2-ピロン化合物およびその用途

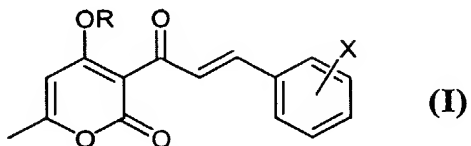


mammalian subject with a need of such treatment, etc.

(57) Abstract: It is intended to provide 2-pyrone compounds represented by the following general formula (I): (I) wherein X represents halogeno, C<sub>1-4</sub> alkyl optionally substituted by C<sub>1-4</sub> alkoxy, etc.; and R represents C<sub>1-4</sub> alkyl, etc.; compositions inhibiting I type collagen gene transcription which contain the above 2-pyrone compound as the active ingredient together with an inert carrier; a treatment method of improving tissue fibrosis characterized by administering an effective dose of the above 2-pyrone compound to a

(57) 要約:

本発明は、式 (I)



[式中、Xは、ハロゲン原子もしくはC 1 - C 4 アルコキシ基で置換されていてもよいC 1 - C 4 アルキル基等を表し、RはC 1 - C 4 アルキル基等を表す。]

で示される 2-ピロン化合物、有効成分としての前記 2-ピロン化合物と不活性担体とを含有する I 型コラーゲン遺伝子転写抑制組成物、組織の繊維化を改善させる処置方法であって、そのような処置を必要とする哺乳動物患者に対して、有効量の前記 2-ピロン化合物を投与することを特徴とする方法等を提供する。



WO 03/080592 A1



(74) 代理人: 榎本 雅之, 外(ENOMOTO,Masayuki et al.);  
〒541-8550 大阪府 大阪市 中央区北浜四丁目 5 番  
3 3 号 住友化学知的財産センター株式会社内 Osaka  
(JP).

(81) 指定国 (国内): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB,  
BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK,  
DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU,  
ID, IL, IN, IS, KE, KG, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU,  
LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, OM,  
PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, TJ, TM, TN,  
TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(84) 指定国 (広域): ARIPO 特許 (GH, GM, KE, LS, MW, MZ,  
SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア特許 (AM,  
AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ特許  
(AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB,  
GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PT, RO, SE, SI, SK, TR),  
OAPI 特許 (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW,  
ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:

— 国際調査報告書

2 文字コード及び他の略語については、定期発行される  
各 PCT ガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語  
のガイダンスノート」を参照。

## 明細書

## 2-ピロン化合物およびその用途

## 技術分野

本発明は、2-ピロン化合物及びその利用に関する。

5

## 背景技術

肝硬変、間質性肺疾患、慢性腎不全（又は慢性腎不全に陥る疾患）、炎症後の過形成痕跡、術後の癒痕や熱傷性癒痕、強皮症、動脈硬化、高血圧等の疾患や異状においては、コラーゲンに代表されるような細胞外マトリックスの過度の集積により組織が線維化して硬化し、その結果、臓器・組織の機能低下や癒痕形成等に至る。このような細胞外マトリックスの過度の集積は、コラーゲン等の生合成と分解とのバランスの破綻に基づくコラーゲンの産生亢進により導かれる。実際、線維化した組織においては、コラーゲン遺伝子、特にI型コラーゲン遺伝子の発現量が増加していることが観察されている [J. Invest. Dermatol., 94, 365, (1990) 10  
15 )、Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 88, 6642, (1991) ]。また、線維化した組織においては、サイトカインの1種であるTGF- $\beta$ の量が上昇していることも観察されている [J. Invest. Dermatol., 94, 365, (1990)、Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 88, 6642, (1991) ]。TGF- $\beta$ は、I型コラーゲン遺伝子の発現量を増加させ、コラーゲンの産生亢進、ひいては、組織の線維化に関与していることが示されている [Lab. Invest., 63, 171, (1990)、J. Invest. Dermatol., 94, 365, (1990) ]。 20

一方、種々の線維症モデル動物において、インターフェロン $\gamma$ の投与により、組織におけるI型コラーゲン遺伝子の発現量が低下し、コラーゲンの量が低下することにより組織の線維化が改善されることが報告されている [Exp. Lung Res., 21, 791-808, (1995)、Kidney Int., 47, 62-69, (1995)、J. Hepatol., 28, 471-479, (1998)、J. Hepatol., 26, 894-903, (1997) ]。 25

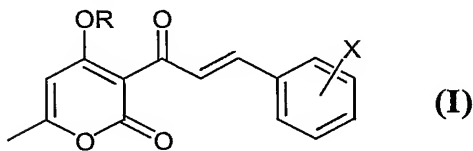
そこで、組織における I 型コラーゲン遺伝子の発現量を減少させ、コラーゲン蓄積量を低下させることにより、組織の線維化を改善させる薬剤（即ち、コラーゲン蓄積抑制剤や線維症治療剤）の開発が切望されている。

## 5 発明の開示

本発明者らは、かかる状況の下、鋭意検討した結果、下記の式（I）で示される 2-ピロン化合物が I 型コラーゲン遺伝子の転写を抑制する能力を有することを見出し、本発明に至った。

即ち、本発明は、

### 10 1. 式（I）



[式中、Xは水素原子、ハロゲン原子、ハロゲン原子もしくはC 1－C 4アルコキシ基で置換されていてもよいC 1－C 4アルキル基、ニトロ基、C 1－C 4アルコキシ基、又は、－WR<sup>1</sup>基（Wは酸素原子又は硫黄原子を表し、R<sup>1</sup>はハロゲン原子で置換されたC 1－C 4アルキル基を表す。）を表し、RはC 1－C 4アルキル基、C 3－C 4アルケニル基又はC 3－C 4アルキニル基を表す。]

で示される 2-ピロン化合物 [以下、本発明化合物(I)と記すことがある。]；

2. RがC 1－C 4アルキル基又はC 3－C 4アルケニル基である前項 1 記載の 2-ピロン化合物；
3. Rがメチル基、エチル基又はアリル基である前項 1 記載の 2-ピロン化合物；
- 20 4. Xが水素原子、ハロゲン原子、ハロゲン原子で置換されていてもよいC 1－C 4アルキル基又はニトロ基である前項 1 記載の 2-ピロン化合物；
5. Xが水素原子、ハロゲン原子、C 1－C 4アルキル基、ニトロ基又はトリフルオロメチル基である前項 1 記載の 2-ピロン化合物；
6. Xが水素原子、塩素原子、メチル基、ニトロ基又はトリフルオロメチル基である
- 25 前項 1 記載の 2-ピロン化合物；

7. Rがメチル基である前項4記載の2-ピロン化合物；

8. Xが塩素原子、メチル基又はトリフルオロメチル基であり、Rがエチル基又はアリル基である前項4記載の2-ピロン化合物；

9. Xが $-WR^1$ 基（Wは酸素原子又は硫黄原子を表し、 $R^1$ はハロゲン原子で置換されたC1-C4アルキル基を表す。）である前項1記載の2-ピロン化合物；

10.  $R^1$ が1以上のフッ素原子で置換されたC1-C4アルキル基である前項9記載の2-ピロン化合物；

11.  $R^1$ がジフルオロメチル基、トリフルオロメチル基又は1, 1, 2, 2-テトラフルオロエチル基である前項9記載の2-ピロン化合物；

12. Wが酸素原子である前項9記載の2-ピロン化合物；

13. Wが硫黄原子であり、 $R^1$ がトリフルオロメチル基である前項9記載の2-ピロン化合物；

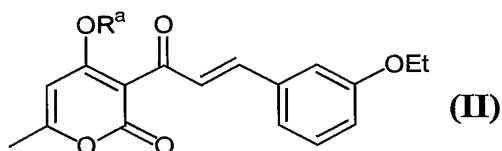
14. Rがメチル基である前項9記載の2-ピロン化合物；

15. XがC1-C4アルコキシ基である前項1記載の2-ピロン化合物；

16. Xがメトキシ基又はエトキシ基である前項15記載の2-ピロン化合物；

17. Rがメチル基、エチル基又はアリル基である前項15記載の2-ピロン化合物；

18. 式(II)



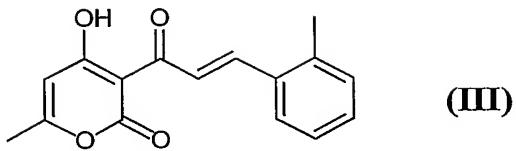
20 [式中、 $R^a$ はエチル基又はアリル基を表す。]

で示される2-ピロン化合物；

19. Xが、C1-C4アルコキシ基で置換されたC1-C4アルキル基である前項1記載の2-ピロン化合物；

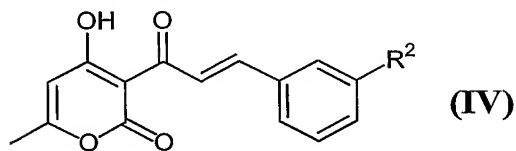
20. Xがメトキシメチル基である前項19記載の2-ピロン化合物；

25 21. 式(III)



で示される 4-ヒドロキシ-2-ピロン化合物；

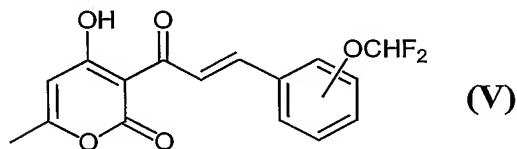
22. 式 (IV)



- 5 [式中、R<sup>2</sup>はエトキシ基、メトキシメチル基又は1, 1, 2, 2-テトラフルオロエトキシ基を表す。]

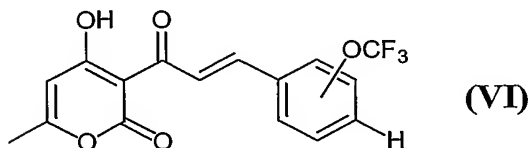
で示される 4-ヒドロキシ-2-ピロン化合物；

23. 式 (V)



- 10 で示される 4-ヒドロキシ-2-ピロン化合物；

24. 式 (VI)



で示される 4-ヒドロキシ-2-ピロン化合物；

- 15 25. I 型コラーゲン遺伝子の転写を抑制するための、前項1記載の 2-ピロン化合物の使用；

26. 有効成分としての前項1記載の 2-ピロン化合物と不活性担体とを含有することを特徴とする I 型コラーゲン遺伝子転写抑制組成物（以下、本発明転写抑制組成物と記すことがある。）；

- 20 27. I 型コラーゲン遺伝子の発現量を減少させてコラーゲン蓄積量の低下を導くことにより組織の線維化を改善するための、前項26記載の I 型コラーゲン遺伝子転写

抑制組成物の使用；

28．有効成分としての前項1記載の2-ピロン化合物と不活性担体とを含有することを特徴とする組織の線維化を改善させる組成物（以下、本発明線維化改善組成物と記すことがある。）；

5 29．組織の線維化を改善させる処置方法であって、そのような処置を必要とする哺乳動物患者に対して、有効量の前項1記載の2-ピロン化合物を投与することを特徴とする方法；

30．TGF- $\beta$ の作用を抑制するための、前項1記載の2-ピロン化合物の使用；

10 31．有効成分としての前項1記載の2-ピロン化合物と不活性担体とを含有することを特徴とするTGF- $\beta$ の作用抑制組成物（以下、本発明TGF- $\beta$ 抑制組成物と記すことがある。）；

32．毛髪の退行期への移行のTGF- $\beta$ による促進を阻害して毛髪成長期の延長を導くことにより養毛効果を得るための、前項31記載のTGF- $\beta$ の作用抑制組成物の使用；

15 33．有効成分としての前項1記載の2-ピロン化合物と不活性担体とを含有することを特徴とする養毛組成物（以下、本発明養毛組成物と記すことがある。）；

34．養毛処置を必要とする哺乳動物患者に対して、有効量の前項1記載の2-ピロン化合物を投与することを特徴とする養毛方法；  
を提供するものである。

20

発明を実施するための最良の形態

以下、本発明を詳細に説明する。

本発明において、

25 Xにおけるハロゲン原子としては、フッ素原子、塩素原子、臭素原子、ヨウ素原子があげられる。

Xにおける、ハロゲン原子（フッ素原子、塩素原子、臭素原子、ヨウ素原子）もしくはC1-C4アルコキシ基で置換されてもよいC1-C4アルキル基としては、例えば、メチル基、トリフルオロメチル基、メトキシメチル基等があげられる。

XにおけるC 1－C 4アルコキシ基としては、例えば、メトキシ基、エトキシ基等があげられる。

R<sup>1</sup>におけるハロゲン原子（フッ素原子、塩素原子、臭素原子、ヨウ素原子）で置換されたC 1－C 4アルキル基としては、例えば、1以上のフッ素原子で置換されたC

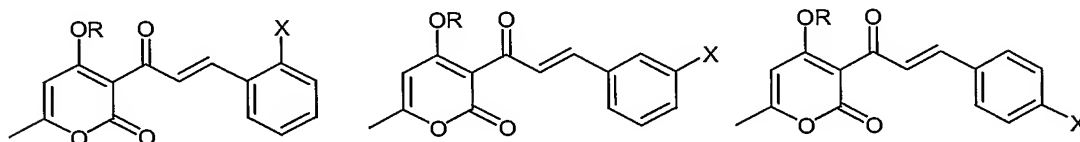
5 1－C 4アルキル基であるジフルオロメチル基、トリフルオロメチル基、1， 1， 2， 2－テトラフルオロエチル基等があげられる。

－WR<sup>1</sup>基（Wは酸素原子又は硫黄原子を表し、R<sup>1</sup>はハロゲン原子で置換されたC 1－C 4アルキル基を表す。）としては、例えば、1以上のフッ素原子で置換されたC

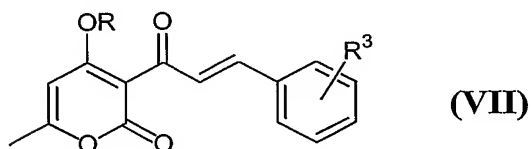
10 フルオロメチルチオ基、1， 1， 2， 2－テトラフルオロエトキシ基等があげられる。

RにおけるC 1－C 4アルキル基、C 3－C 4アルケニル基又はC 3－C 4アルキニル基としては、例えば、メチル基、エチル基、アリル基等があげられる。

15 本発明化合物(I)の態様としては、以下の態様があげられる。



本発明化合物(I)のうち、典型的な化合物の例として、  
式 (VII)

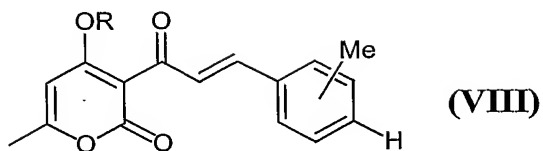


20 [式中、R<sup>3</sup>は塩素原子、トリフルオロメチル基、ジフルオロメトキシ基又はトリフルオロメトキシ基を表し、RはC 1－C 4アルキル基、C 3－C 4アルケニル基又はC 3－C 4アルキニル基を表す。]

で示される2-ピロン化合物、



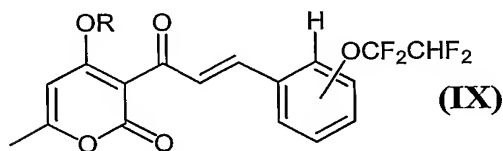
式 (VIII)



[式中、RはC 1 - C 4アルキル基、C 3 - C 4アルケニル基又はC 3 - C 4アルキニル基を表す。]

5    で示される 2-ピロン化合物、

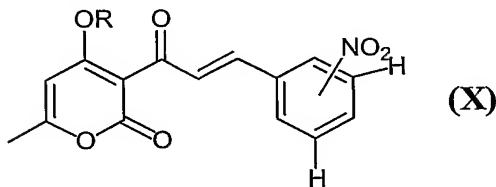
式 (IX)



[式中、RはC 1 - C 4アルキル基、C 3 - C 4アルケニル基又はC 3 - C 4アルキニル基を表す。]

10    で示される 2-ピロン化合物、

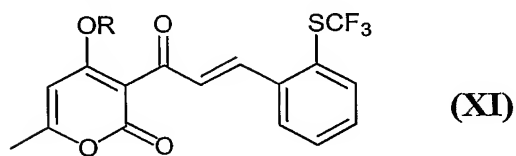
式 (X)



[式中、RはC 1 - C 4アルキル基、C 3 - C 4アルケニル基又はC 3 - C 4アルキニル基を表す。]

15    で示される 2-ピロン化合物、

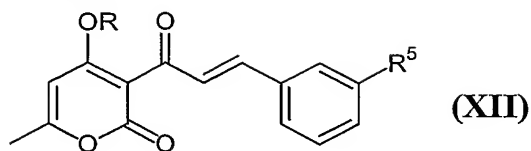
式 (XI)



[式中、RはC 1 - C 4アルキル基、C 3 - C 4アルケニル基又はC 3 - C 4アルキニル基を表す。]

20    で示される 2-ピロン化合物、

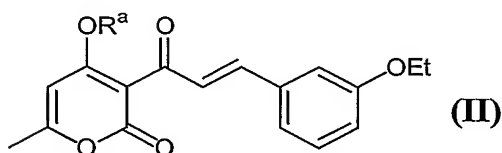
式 (XII)



[式中、R<sup>5</sup>はハロゲン原子、ハロゲン原子もしくはC 1－C 4アルコキシ基で置換されていてもよいC 1－C 4アルキル基又はハロゲン原子で置換されたC 1－C 4アルコキシ基を表し、RはC 1－C 4アルキル基、C 3－C 4アルケニル基又はC 3－C 4アルキニル基を表す。]

で示される2-ピロン化合物、

式 (II)



10 [式中、R<sup>a</sup>はエチル基又はアリル基を表す。]

で示される2-ピロン化合物 等を挙げることができる。

ここで、上記のRにおける、C 1－C 4アルキル基、C 3－C 4アルケニル基又はC 3－C 4アルキニル基としては、例えば、メチル基、エチル基、アリル基等があげられる。

15 また、上記のR<sup>5</sup>において、

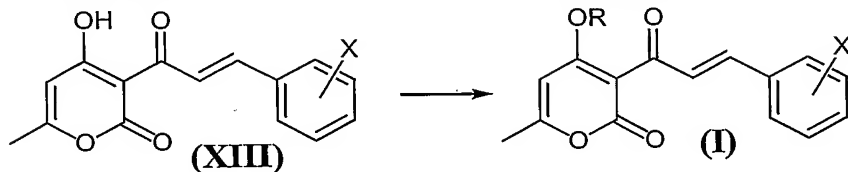
ハロゲン原子としては、例えば、塩素原子等があげられ、

ハロゲン原子もしくはC 1－C 4アルコキシ基で置換されていてもよいC 1－C 4アルキル基としては、例えば、メチル基、トリフルオロメチル基、メトキシメチル基等があげられ、

20 ハロゲン原子で置換されたC 1－C 4アルコキシ基としては、例えば、ジフルオロメトキシ基、トリフルオロメトキシ基又は1, 1, 2, 2-テトラフルオロエトキシ基等があげられる。

本発明化合物(I)は、式 (XIII) (式中、Xは前記と同一の意味を表す。) で示さ

れる化合物（以下、本中間体（XIII）と記すことがある。）を、アルキル化、アルケニル化又はアルキニル化することにより製造することができる。



- 5 アルキル化、アルケニル化又はアルキニル化の方法としては、例えば、式（XIII）で示される化合物と式（XIV）



[式中、Rは前記と同一の意味を表し、Yは脱離基を表す。]

- 10 で示されるアルキル化剤、アルケニル化剤又はアルキニル化剤〔以下、化合物（XIV）と記すことがある。〕とを塩基の存在下で反応させる方法をあげることができる。

式（XIII）で示される化合物と化合物（XIV）との塩基の存在下での反応は、通常、溶媒中で行われる。反応に用いられる溶媒としては、例えば、N，N-ジメチルホルムアミド、N，N-ジメチルアセトアミド等の酸アミド類、ジメチルスルホキシド等のスルホキシド類、ヘキサメチルホスホラミド等のリン酸アミド化合物類、アセト

- 15 ン、メチルエチルケトン等のケトン類等があげられる。

反応に用いられる塩基としては、例えば、水素化ナトリウム、水素化カリウム等のアルカリ金属水素化物類、炭酸ナトリウム、炭酸カリウム等のアルカリ金属の炭酸塩類、酸化銀等があげられる。

- 20 反応に用いられるアルキル化剤、アルケニル化剤又はアルキニル化剤としては、例えば、メタンスルホン酸メチル等のアルキルスルホン酸エステル類、p-トルエンスルホン酸エチル等のアリールスルホン酸エステル類、ジメチル硫酸等の硫酸エステル類、臭化エチル、臭化アリル、臭化プロパルギル等のハライド類があげられる。

- 25 反応に用いられる試剤の量は、式（XIII）で示される化合物 1 モルに対して、塩基は、通常、1 モル～2 モルの割合、化合物（XIV）は、通常、1 モル～2 モルの割合である。

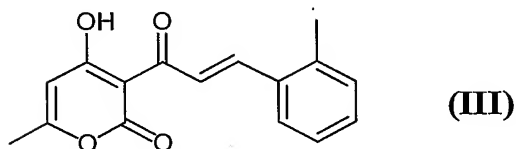
反応温度は、通常、0℃～100℃の範囲内、反応時間は、通常、1時間～200

時間の範囲内である。

反応終了後、反応混合物を有機溶媒抽出し、有機層を乾燥、濃縮する等の後処理操作を行うことにより、本発明化合物(I)を単離することができる。単離された本発明化合物(I)はクロマトグラフィー、再結晶等によりさらに精製することもできる。

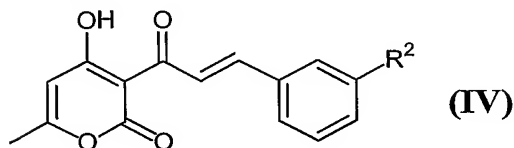
5 本中間体 (XIII) のうち、

式 (III)



で示される 4-ヒドロキシ-2-ピロン化合物、

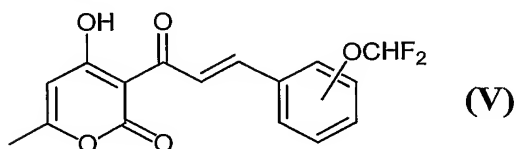
式 (IV)



10 [式中、R²はエトキシ基、メトキシメチル基又は1, 1, 2, 2-テトラフルオロエトキシ基を表す。]

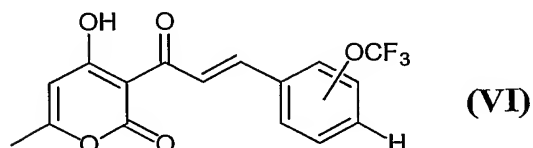
で示される 4-ヒドロキシ-2-ピロン化合物、

式 (V)



で示される 4-ヒドロキシ-2-ピロン化合物、及び

15 式 (VI)



で示される 4-ヒドロキシ-2-ピロン化合物は、例えば、デヒドロ酢酸とベンズアルデヒド化合物とを反応させる (Indian J. Chem (1974), 12, 9

5 6 参照) ことにより製造することができる。

表 1 に、化合物番号 (i) ~ (xxiv) で表される本中間体 (XIII) を例示する。

5 表 1 本中間体 (XIII)

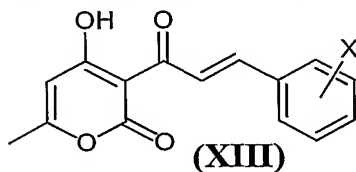


表 1

化合物番号	X	化合物番号	X
(i)	H	(xiii)	3-NO <sub>2</sub>
(ii)	2-Cl	(xiv)	4-NO <sub>2</sub>
(iii)	3-Cl	(xv)	3-CH <sub>2</sub> OMe
(iv)	4-Cl	(xvi)	2-OCHF <sub>2</sub>
(v)	2-Me	(xvii)	3-OCHF <sub>2</sub>
(vi)	3-Me	(xviii)	4-OCHF <sub>2</sub>
(vii)	4-OMe	(xix)	2-OCF <sub>3</sub>
(viii)	3-OC <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	(xx)	3-OCF <sub>3</sub>
(ix)	2-CF <sub>3</sub>	(xxi)	4-OCF <sub>3</sub>
(x)	3-CF <sub>3</sub>	(xxii)	2-SCF <sub>3</sub>
(xi)	4-CF <sub>3</sub>	(xxiii)	3-OCF <sub>2</sub> CHF <sub>2</sub>
(xii)	2-NO <sub>2</sub>	(xxiv)	4-OCF <sub>2</sub> CHF <sub>2</sub>

表 2 に、化合物番号 (1) ~ (14) で表される本発明化合物 (I) を例示する。

表 2 本発明化合物(I)

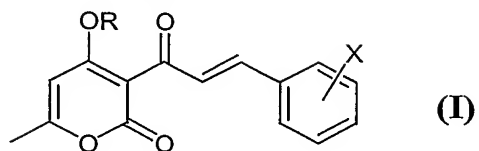


表 2

化合物番号	X	R
(1)	H	Me
(2)	2-C1	Me
(3)	3-C1	Me
(4)	3-C1	CH <sub>2</sub> CH=CH <sub>2</sub>
(5)	4-C1	Me
(6)	2-Me	Me
(7)	3-Me	Me
(8)	3-Me	CH <sub>2</sub> CH=CH <sub>2</sub>
(9)	4-OMe	Me
(10)	3-OC <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	Et
(11)	3-OC <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	CH <sub>2</sub> CH=CH <sub>2</sub>
(12)	2-CF <sub>3</sub>	Me
(13)	3-CF <sub>3</sub>	Me
(14)	3-CF <sub>3</sub>	CH <sub>2</sub> CH=CH <sub>2</sub>

5 表 3 に、化合物番号(15)～(28)で表される本発明化合物(I)を例示する。

表 3 本発明化合物(I)

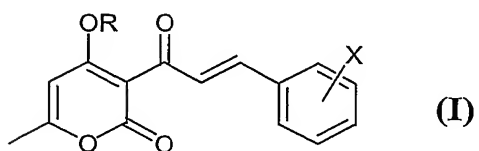


表 3

化合物番号	X	R
(15)	4-CF <sub>3</sub>	Me
(16)	2-NO <sub>2</sub>	Me
(17)	3-NO <sub>2</sub>	Me
(18)	4-NO <sub>2</sub>	Me
(19)	3-CH <sub>2</sub> OMe	Me
(20)	2-OCHF <sub>2</sub>	Me
(21)	3-OCHF <sub>2</sub>	Me
(22)	4-OCHF <sub>2</sub>	Me
(23)	2-OCF <sub>3</sub>	Me
(24)	3-OCF <sub>3</sub>	Me
(25)	4-OCF <sub>3</sub>	Me
(26)	2-SCF <sub>3</sub>	Me
(27)	3-OCF <sub>2</sub> CHF <sub>2</sub>	Me
(28)	4-OCF <sub>2</sub> CHF <sub>2</sub>	Me

本発明化合物(I)は、I型コラーゲン遺伝子の転写を抑制する能力を有する。当該能力は、I型コラーゲン遺伝子の発現量を減少させてコラーゲン蓄積量の低下を導くことにより組織の線維化を改善するために重要である。よって、本発明化合物(I)は、I型コラーゲン遺伝子の発現量を減少させてコラーゲン蓄積量の低下を導くことにより組織の線維化を改善するための組成物（医薬品、化粧品、食品添加物等）の有効成分として利用することができる。

本発明転写抑制組成物や本発明線維化改善組成物の適用可能な疾患としては、コラーゲンの過度の集積により組織が線維化して硬化し、その結果、臓器・組織の機能低下や瘢痕形成等を来す疾患（即ち、線維症）をあげることができる。例えば、肝硬変、間質性肺疾患、慢性腎不全（又は慢性腎不全に陥る疾患）、炎症後の過形成痕跡、術後の瘢痕や熱傷性瘢痕、強皮症、動脈硬化、高血圧等の疾患や異状等をあげるこ

とができる。

かかる本発明転写抑制組成物や本発明線維化改善組成物は、本発明化合物(I)と不活性担体とを含有する。これらの組成物中に含有される本発明化合物(I)は、通常、0.01重量%~99.99重量%であり、不活性担体は、通常、99.99重量%~0.01重量%である。該不活性担体は、薬学的に許容される担体や賦形剤であり、本発明転写抑制組成物や本発明線維化改善組成物はさらに、医薬品添加剤、化粧品添加剤、食品添加剤等を含有してもよい。

また、本発明化合物(I)は、後述する実施例54にも示されるように、TGF- $\beta$ が有するI型コラーゲン遺伝子の転写促進能力を阻害する。即ち、本発明化合物(I)はTGF- $\beta$ の作用を抑制する能力を有するTGF- $\beta$ アンタゴニストである。よって、本発明化合物(I)は、TGF- $\beta$ の作用抑制組成物の有効成分として利用することもできる。TGF- $\beta$ は、毛髪の成長サイクルにおける成長期から退行期への移行を促進する能力を有することが知られている[J. Invest. Dermatol., 111, 948-954 (1998)、FASEB J., 16, 1967-1969 (2002)]。さらに、抗TGF- $\beta$ 抗体や、TGF- $\beta$ 阻害剤であるFetuin等は、TGF- $\beta$ による毛の伸長抑制作用に対して拮抗的に働き、毛の伸長促進作用を示すことが報告されている[J. Invest. Dermatol., 118, 993-997 (2002)、公開特許公報 特開2000-342296]。よって、本発明化合物(I)を有効成分として含有するTGF- $\beta$ の作用抑制組成物は、毛髪の退行期への移行のTGF- $\beta$ による促進を阻害して毛髪成長期の延長を導くことにより養毛効果を得るための組成物(医薬品、化粧品、食品添加物等)としての利用が考えられる。

かかる本発明TGF- $\beta$ 抑制組成物や本発明養毛組成物は、本発明化合物(I)と不活性担体とを含有する。これらの組成物中に含有される本発明化合物(I)は、通常、0.01重量%~99.99重量%であり、不活性担体は、通常、99.99重量%~0.01重量%である。該不活性担体は、薬学的に許容される担体や賦形剤であり、本発明TGF- $\beta$ 抑制組成物や本発明養毛組成物はさらに、医薬品添加剤、化粧品



添加剤、食品添加剤等を含むしてもよい。

上記組成物に用いられる薬学的に許容される担体、賦形剤、医薬品添加剤、食品添加剤、化粧品添加剤等は、当該組成物の具体的用途に応じて適宜選択することができる。また、当該組成物の形態も、具体的用途に応じて、例えば、種々の固体、液体等の形態とすることができる。

例えば、本発明化合物(I)を医薬品の有効成分として用いる場合には、具体的な形態として、例えば、散剤、細粒剤、顆粒剤、錠剤、シロップ剤、カプセル剤、懸濁化剤、エマルジョン剤、エキス剤及び丸剤等の経口剤、注射剤、外用液剤や軟膏剤等の経皮吸収剤、坐剤及び局所剤等の非経口剤等をあげることができる。

経口剤は、例えば、ゼラチン、アルギン酸ナトリウム、澱粉、コーンスターチ、白糖、乳糖、ぶどう糖、マンニット、カルボキシメチルセルロース、デキストリン、ポリビニルピロリドン、結晶セルロース、大豆レシチン、ショ糖、脂肪酸エステル、タルク、ステアリン酸マグネシウム、ポリエチレングリコール、ケイ酸マグネシウム、無水ケイ酸等の担体や賦形剤、結合剤、崩壊剤、界面活性剤、滑沢剤、流動性促進剤、希釈剤、保存剤、着色剤、香料、安定化剤、保湿剤、防腐剤、酸化防止剤等の医薬品添加剤を用いて、通常の方法に従って製造することができる。

投与量は、投与される哺乳動物の年令、性別、体重、疾患の程度、本発明の組成物の種類、投与形態等によって異なるが、通常は経口の場合にはヒト成人で1日あたり有効成分量として約1mg～約2g、好ましくは有効成分量として約5mg～約1gを投与すればよい。また、前記の1日の投与量を1回または数回に分けて投与することができる。

非経口剤のうち、注射剤は、生理食塩水、滅菌水リンゲル液等の水溶性溶剤、植物油、脂肪酸エステル等の非水溶性溶剤、ブドウ糖、塩化ナトリウム等の等張化剤、溶解補助剤、安定化剤、防腐剤、懸濁化剤、乳化剤等の医薬品添加剤を用いて、通常の方法に従って製造することができる。外用液剤、ゲル状軟膏等の経皮吸収剤、直腸内投与のための坐剤等も通常の方法に従って製造することができる。このような非経口剤を投与するには、注射（皮下、静脈内等）、経皮投与、直腸投与すればよい。局所

剤は、例えば、本発明化合物(I)をエチレンビニル酢酸ポリマー等の徐放性ポリマーのペレットに取り込ませて製造することができる。このペレットを治療すべき組織中に外科的に移植すればよい。

5 投与量は、投与される哺乳動物の年令、性別、体重、疾患の程度、本発明の組成物の種類、投与形態等によって異なるが、通常は注射の場合にはヒト成人で有効成分量として約0.1mg～約500mgを投与すればよい。また、前記の1日の投与量を1回または数回に分けて投与することができる。

10 本発明化合物(I)を化粧品に添加して用いる場合には、該化合物が添加された化粧品の具体的な形態としては、例えば、液状、乳状、クリーム、ローション、軟膏、ゲル、エアゾール、ムース等をあげることができる。ローションは、例えば、懸濁剤、乳化剤、保存剤等の化粧品添加剤を用いて、通常の方法に従って製造することができる。

15 投与量は、投与される哺乳動物の年令、性別、体重、疾患の程度、本発明の組成物の種類、投与形態等によって異なるが、通常ヒト成人で有効成分量として約0.01mg～約50mgを投与すればよい。また、前記の1日の投与量を1回または数回に分けて投与することができる。

20 本発明化合物(I)を食品添加物として用いる場合には、該添加物が添加された食品の具体的な形態としては、例えば、粉末、錠剤、飲料、摂取可能なゲルもしくはシロップとの混合液状物、例えば、調味料、和菓子、洋菓子、氷菓、飲料、スプレッド、ペースト、漬物、ビン缶詰、畜肉加工品、魚肉・水産加工品、乳・卵加工品、野菜加工品、果実加工品、穀類加工品等の一般的な飲食物や嗜好物等をあげることができる。また、家畜、家禽、蜜蜂、蚕、魚等の飼育動物のための飼料や餌料への添加も可能である。

25 投与量は、投与される哺乳動物の年令、性別、体重、疾患の程度、本発明の組成物の種類、投与形態等によって異なるが、通常ヒト成人で有効成分量として約0.1mg～約500mgを投与すればよい。また、前記の1日の投与量を1回または数回に分けて投与することができる。

## 実施例

以下に実施例を挙げ、本発明を更に具体的に説明する。

## 実施例 1 (本中間体 (XIII) の製造 (その 1))

- 5 クロロホルム 150 ml にデヒドロ酢酸 15.0 g、ベンズアルデヒド 9.47 g 及びピペリジン 2 ml を溶解し、モレキュラーシーブスを充填したソックスレー抽出器で水分を除去しつつ、還流下に 2 時間 30 分加熱した。更に、デヒドロ酢酸 15.0 g 及びピペリジン 2 ml を添加し、水分を除去しつつ還流下に 2 時間 30 分加熱した。室温に冷却後、反応液を 10% 塩酸、飽和食塩水で順次洗浄し、無水硫酸マグネシウムで乾燥した後、濃縮した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィーに付して結晶を得た。この結晶をクロロホルムとヘキサンの混合液、続いてエタノールで再結晶して 4-ヒドロキシ-3-[3-フェニル-1-オキソ-2-プロペニル]-6-メチル-2
- 10 H-ピラン-2-オン [化合物番号(i)] の淡黄色結晶 8.15 g を得た。

融点：130～133℃

15

## 実施例 2 (本中間体 (XIII) の製造 (その 2))

- ベンズアルデヒドの代わりに、2-クロロベンズアルデヒド 32.32 g を用いた以外は、上記実施例 1 と同様にして、4-ヒドロキシ-3-[3-(2-クロロフェニル)-1-オキソ-2-プロペニル]-6-メチル-2 H-ピラン-2-オン (化合物番号 (ii))
- 20 ) 7.77 g を得た。

融点：131～134℃

## 実施例 3 (本中間体 (XIII) の製造 (その 3))

- ベンズアルデヒドの代わりに、3-クロロベンズアルデヒド 32.14 g を用いた
- 25 以外は、上記実施例 1 と同様にして、4-ヒドロキシ-3-[3-(3-クロロフェニル)-1-オキソ-2-プロペニル]-6-メチル-2 H-ピラン-2-オン (化合物番号 (iii))
- ) 11.15 g を得た。

融点：150.5～153℃

## 実施例4（本中間体（XIII）の製造（その4））

ベンズアルデヒドの代わりに、4-クロロベンズアルデヒド32.14gを用いた  
以外は、上記実施例1と同様にして、4-ヒドロキシ-3-[3-(4-クロロフェニル  
5) -1-オキソ-2-プロペニル]-6-メチル-2H-ピラン-2-オン（化合物番号（iv）  
）9.20gを得た。

融点：159～160.5℃

## 実施例5（本中間体（XIII）の製造（その5））

10 ベンズアルデヒドの代わりに、2-メチルベンズアルデヒド25.00gを用いた  
以外は、上記実施例1と同様にして、4-ヒドロキシ-3-[3-(2-メチルフェニル  
)-1-オキソ-2-プロペニル]-6-メチル-2H-ピラン-2-オン（化合物番号（v））  
7.49gを得た。

融点：143～144℃

15  $^1\text{H-NMR}$  (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (ppm) : 2.29 (s, 3H),  
2.50 (s, 3H), 5.96 (s, 1H), 7.20～7.35 (m, 3H),  
7.79 (dd, 1H,  $J=1.1, 8.2\text{ Hz}$ ), 8.23 (d, 1H,  $J=15.6\text{ Hz}$ ),  
8.30 (d, 1H,  $J=15.6\text{ Hz}$ ), 12.32 (s, 1H)

## 20 実施例6（本中間体（XIII）の製造（その6））

ベンズアルデヒドの代わりに、3-メチルベンズアルデヒド25.65gを用いた  
以外は、上記実施例1と同様にして、4-ヒドロキシ-3-[3-(3-メチルフェニル  
)-1-オキソ-2-プロペニル]-6-メチル-2H-ピラン-2-オン（化合物番号（vi）  
）5.27gを得た。

25 融点：135.5～136℃

## 実施例7（本中間体（XIII）の製造（その7））

ベンズアルデヒドの代わりに、4-メトキシベンズアルデヒド4.08gを用いた

以外は、上記実施例1と同様にして、4-ヒドロキシ-3-[3-(4-メトキシフェニル)-1-オキソ-2-プロペニル]-6-メチル-2H-ピラン-2-オン（化合物番号(vii)）0.77gを得た。

融点：205～208.5℃

5

#### 実施例8（本中間体(XIII)の製造(その8)）

ベンズアルデヒドの代わりに、3-エトキシベンズアルデヒド3.00gを用いた以外は、上記実施例1と同様にして、4-ヒドロキシ-3-[3-(3-エトキシフェニル)-1-オキソ-2-プロペニル]-6-メチル-2H-ピラン-2-オン（化合物番号(viii)）の淡黄色結晶2.07gを得た。

10

融点：136～137℃

$^1\text{H-NMR}$  (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (ppm) : 1.44 (t, 3H,  $J=7.1\text{Hz}$ ), 2.28 (s, 3H), 4.08 (q, 2H,  $J=7.1\text{Hz}$ ), 5.96 (s, 1H), 6.97 (dt, 1H,  $J=1.7, 7.8\text{Hz}$ ), 7.19 (d, 1H,  $J=2.0\text{Hz}$ ), 7.26～7.36 (m, 2H), 7.92 (d, 1H,  $J=15.7\text{Hz}$ ), 8.29 (d, 1H,  $J=15.7\text{Hz}$ ), 12.35 (s, 1H)

15

#### 実施例9（本中間体(XIII)の製造(その9)）

ベンズアルデヒドの代わりに、2-トリフルオロメチルベンズアルデヒド33.70gを用いた以外は、上記実施例1と同様にして、4-ヒドロキシ-3-[3-(2-トリフルオロメチルフェニル)-1-オキソ-2-プロペニル]-6-メチル-2H-ピラン-2-オン（化合物番号(ix)）3.14gを得た。

20

融点：110～110.5℃

25

#### 実施例10（本中間体(XIII)の製造(その10)）

ベンズアルデヒドの代わりに、3-トリフルオロメチルベンズアルデヒド33.40gを用いた以外は、上記実施例1と同様にして、4-ヒドロキシ-3-[3-(3-トリ

リフルオロメチルフェニル)-1-オキソ-2-プロペニル]-6-メチル-2H-ピラン-2-オン (化合物番号 (x)) 14.26 g を得た。

融点: 133 ~ 133.5 °C

5 実施例 11 (本中間体 (XIII) の製造 (その 11))

ベンズアルデヒドの代わりに、4-トリフルオロメチルベンズアルデヒド 17.40 g を用いた以外は、上記実施例 1 と同様にして、4-ヒドロキシ-3-[3-(4-トリフルオロメチルフェニル)-1-オキソ-2-プロペニル]-6-メチル-2H-ピラン-2-オン (化合物番号 (xi)) 8.87 g を得た。

10 融点: 149 ~ 150 °C

実施例 12 (本中間体 (XIII) の製造 (その 12))

ベンズアルデヒドの代わりに、2-ニトロベンズアルデヒド 29.15 g を用いた以外は、上記実施例 1 と同様にして、4-ヒドロキシ-3-[3-(2-ニトロフェニル)-1-オキソ-2-プロペニル]-6-メチル-2H-ピラン-2-オン (化合物番号 (xii)) 15.77 g を得た。

融点: 158.5 ~ 159 °C

実施例 13 (本中間体 (XIII) の製造 (その 13))

20 ベンズアルデヒドの代わりに、3-ニトロベンズアルデヒド 10.13 g を用いた以外は、上記実施例 1 と同様にして、4-ヒドロキシ-3-[3-(3-ニトロフェニル)-1-オキソ-2-プロペニル]-6-メチル-2H-ピラン-2-オン (化合物番号 (xiii)) 7.67 g を得た。

融点: 183 ~ 183.5 °C

25

実施例 14 (本中間体 (XIII) の製造 (その 14))

ベンズアルデヒドの代わりに、4-ニトロベンズアルデヒド 22.07 g を用いた以外は、上記実施例 1 と同様にして、4-ヒドロキシ-3-[3-(4-ニトロフェニル

) -1-オキソ-2-プロペニル]-6-メチル-2H-ピラン-2-オン (化合物番号 (xiv))  
17.38 gを得た。

融点: 243.5~244°C

5 実施例15 (本中間体 (XIII) の製造 (その15))

ベンズアルデヒドの代わりに、3-メトキシメチルベンズアルデヒド7.87 gを用いた以外は、上記実施例1と同様にして、4-ヒドロキシ-3-[3-(3-メトキシメチルフェニル)-1-オキソ-2-プロペニル]-6-メチル-2H-ピラン-2-オン (化合物番号 (xv)) 2.06 gを得た。

10 融点: 118.5~119°C

$^1\text{H-NMR}$  (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (ppm): 2.29 (s, 3H), 3.42 (s, 3H), 4.49 (s, 2H), 5.96 (s, 1H), 7.35~7.45 (m, 2H), 7.55~7.65 (m, 2H), 7.97 (d, 1H,  $J=15.8\text{ Hz}$ ), 8.32 (d, 1H,  $J=15.7\text{ Hz}$ ), 12.35 (s, 1H)

実施例16 (本中間体 (XIII) の製造 (その16))

ベンズアルデヒドの代わりに、2-ジフルオロメトキシベンズアルデヒド5.00 gを用いた以外は、上記実施例1と同様にして、4-ヒドロキシ-3-[3-(2-ジフルオロメトキシフェニル)-1-オキソ-2-プロペニル]-6-メチル-2H-ピラン-2-オン (化合物番号 (xvi)) の淡黄色結晶2.11 gを得た。

融点: 178~179°C

$^1\text{H-NMR}$  (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (ppm): 2.29 (s, 3H), 5.97 (s, 1H), 6.59 (t, 1H,  $J=73.1\text{ Hz}$ ), 7.20 (d, 1H,  $J=8.5\text{ Hz}$ ), 7.28 (t, 1H,  $J=7.2\text{ Hz}$ ), 7.43 (dt, 1H,  $J=1.8, 8.0\text{ Hz}$ ), 7.87 (dd, 1H,  $J=1.4, 7.8\text{ Hz}$ ), 8.24 (d, 1H,  $J=16.0\text{ Hz}$ ), 8.35 (d, 1H,  $J=16.1\text{ Hz}$ ), 12.40 (s, 1H)

## 実施例 17 (本中間体 (XIII) の製造 (その 17) )

ベンズアルデヒドの代わりに、3-ジフルオロメトキシベンズアルデヒド 5.00 g を用いた以外は、上記実施例 1 と同様にして、4-ヒドロキシ-3-[3-(3-ジフル  
5 オロメトキシフェニル)-1-オキソ-2-プロペニル]-6-メチル-2H-ピラン-2-オン (化合物番号 (xvii) ) 2.52 g を得た。

融点: 122~123°C

$^1\text{H-NMR}$  (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (ppm) : 2.30 (s, 3H),  
5.98 (s, 1H), 6.55 (t, 1H,  $J=73.5\text{Hz}$ ), 7.19 (dd  
10 , 1H,  $J=1.8, 8.1\text{Hz}$ ), 7.38~7.48 (m, 2H), 7.55 (d, 1H,  $J=7.7\text{Hz}$ ), 7.89 (d, 1H,  $J=15.8\text{Hz}$ ), 8.30 (d, 1H,  $J=15.7\text{Hz}$ ), 12.56 (s, 1H)

## 実施例 18 (本中間体 (XIII) の製造 (その 18) )

15 ベンズアルデヒドの代わりに、4-ジフルオロメトキシベンズアルデヒド 6.13 g を用いた以外は、上記実施例 1 と同様にして、4-ヒドロキシ-3-[3-(4-ジフルオロメトキシフェニル)-1-オキソ-2-プロペニル]-6-メチル-2H-ピラン-2-オン (化合物番号 (xviii) ) 4.33 g を得た。

融点: 167~168°C

20  $^1\text{H-NMR}$  (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (ppm) : 2.29 (s, 3H),  
5.97 (s, 1H), 6.57 (t, 1H,  $J=73.3\text{Hz}$ ), 7.16 (d, 2H,  $J=8.6\text{Hz}$ ), 7.70 (d, 2H,  $J=8.6\text{Hz}$ ), 7.92 (d, 1H,  $J=15.8\text{Hz}$ ), 8.26 (d, 1H,  $J=15.8\text{Hz}$ ), 12.43 (s, 1H)

25

## 実施例 19 (本中間体 (XIII) の製造 (その 19) )

ベンズアルデヒドの代わりに、2-トリフルオロメトキシベンズアルデヒド 5.00 g を用いた以外は、上記実施例 1 と同様にして、4-ヒドロキシ-3-[3-(2-トリ



フルオロメトキシフェニル)-1-オキソ-2-プロペニル]-6-メチル-2H-ピラン-2-オン (化合物番号 (xix)) 2.00 g を得た。

融点: 118~118.5°C

$^1\text{H-NMR}$  (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (ppm): 2.30 (s, 3H),  
5 5.98 (s, 1H), 7.30 (dd, 1H,  $J=1.3, 6.6\text{Hz}$ ), 7.36 (t, 1H,  $J=7.6\text{Hz}$ ), 7.46 (dt, 1H,  $J=2.0, 7.9\text{Hz}$ ), 7.90 (dd, 1H,  $J=1.4, 7.8\text{Hz}$ ), 8.19 (d, 1H,  $J=15.8\text{Hz}$ ), 8.35 (d, 1H,  $J=15.8\text{Hz}$ ), 12.58 (s, 1H)

10

実施例 20 (本中間体 (XIII) の製造 (その 20))

ベンズアルデヒドの代わりに、3-トリフルオロメトキシベンズアルデヒド 5.00 g を用いた以外は、上記実施例 1 と同様にして、4-ヒドロキシ-3-[3-(3-トリフルオロメトキシフェニル)-1-オキソ-2-プロペニル]-6-メチル-2H-ピラン-2-オン (化合物番号 (xx)) 1.81 g を得た。

15

融点: 108~108.5°C

$^1\text{H-NMR}$  (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (ppm): 2.30 (s, 3H),  
5.98 (s, 1H), 7.28 (d, 1H,  $J=7.6\text{Hz}$ ), 7.45 (t, 1H,  $J=7.9\text{Hz}$ ), 7.48 (s, 1H), 7.63 (d, 1H,  $J=7.7\text{Hz}$ ),  
20 7.89 (d, 1H,  $J=15.8\text{Hz}$ ), 8.31 (d, 1H,  $J=15.7\text{Hz}$ ), 12.61 (s, 1H)

実施例 21 (本中間体 (XIII) の製造 (その 21))

ベンズアルデヒドの代わりに、4-トリフルオロメトキシベンズアルデヒド 6.77 g を用いた以外は、上記実施例 1 と同様にして、4-ヒドロキシ-3-[3-(4-トリフルオロメトキシフェニル)-1-オキソ-2-プロペニル]-6-メチル-2H-ピラン-2-オン (化合物番号 (xxi)) 0.84 g を得た。

25

融点: 115~118°C

$^1\text{H-NMR}$  (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (ppm) : 2.29 (s, 3H),  
 5.98 (s, 1H), 7.26 (d, 2H,  $J=8.4\text{Hz}$ ), 7.71 (d, 2  
 H,  $J=8.8\text{Hz}$ ), 7.91 (d, 1H,  $J=15.7\text{Hz}$ ), 8.28 (d,  
 1H,  $J=15.7\text{Hz}$ ), 12.53 (s, 1H)

5

#### 実施例22 (本中間体 (XIII) の製造 (その22))

ベンズアルデヒドの代わりに、2-トリフルオロメチルチオベンズアルデヒド5.  
 00gを用いた以外は、上記実施例1と同様にして、4-ヒドロキシ-3-[3-(2-ト  
 リフルオロメチルチオフェニル)-1-オキシ-2-プロペニル]-6-メチル-2H-ピラ  
 ン-2-オン (化合物番号 (xxii)) 1.76gを得た。

10

融点: 128~128.5°C

$^1\text{H-NMR}$  (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (ppm) : 2.30 (s, 3H),  
 5.99 (s, 1H), 7.47 (dt, 1H,  $J=1.3, 6.1\text{Hz}$ ), 7.5  
 8 (t, 1H,  $J=7.1\text{Hz}$ ), 7.79 (d, 1H,  $J=7.7\text{Hz}$ ), 8.  
 00 (dd, 1H,  $J=1.2, 7.9\text{Hz}$ ), 8.31 (d, 1H,  $J=15.6$   
 Hz), 8.60 (d, 1H,  $J=15.7\text{Hz}$ ), 12.59 (s, 1H)

15

#### 実施例23 (本中間体 (XIII) の製造 (その23))

ベンズアルデヒドの代わりに、3-(1,1,2,2-テトラフルオロエトキシ)ベ  
 ンズアルデヒド25.0gを用いた以外は、上記実施例1と同様にして、4-ヒドロ  
 キシ-3-{3-[3-(1,1,2,2-テトラフルオロエトキシ)フェニル]-1-オキシ  
 -2-プロペニル}-6-メチル-2H-ピラン-2-オン (化合物番号 (xxiii)) 10.6  
 gを得た。

20

融点: 118~119°C

$^1\text{H-NMR}$  (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (ppm) : 2.30 (s, 3H),  
 5.94 (tt, 1H,  $J=2.8, 53.1\text{Hz}$ ), 5.98 (s, 1H), 7.  
 28 (dd, 1H,  $J=1.4, 9.2\text{Hz}$ ), 7.44 (t, 1H,  $J=7.9\text{Hz}$ ),  
 7.49 (s, 1H), 7.61 (d, 1H,  $J=7.8\text{Hz}$ ), 7.89 (

25

d, 1H,  $J=15.7\text{ Hz}$ ), 8.31 (d, 1H,  $J=15.7\text{ Hz}$ ), 12.58 (s, 1H)

#### 実施例 24 (本中間体 (XIII) の製造 (その 24))

5    ベンズアルデヒドの代わりに、4-(1, 1, 2, 2-テトラフルオロエトキシ) ベンズアルデヒド 5.00 g を用いた以外は、上記実施例 1 と同様にして、4-ヒドロキシ-3-{3-[4-(1, 1, 2, 2-テトラフルオロエトキシ) フェニル]-1-オキソ-2-プロペニル}-6-メチル-2H-ピラン-2-オン (化合物番号 (xxiv)) 1.79 g を得た。

10    融点: 115.5~116°C

$^1\text{H-NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (ppm): 2.29 (s, 3H), 5.92 (tt, 1H,  $J=2.8, 52.9\text{ Hz}$ ), 5.97 (s, 1H), 7.27 (d, 2H,  $J=8.6\text{ Hz}$ ), 7.71 (d, 2H,  $J=8.6\text{ Hz}$ ), 7.92 (d, 1H,  $J=15.8\text{ Hz}$ ), 8.29 (d, 1H,  $J=15.7\text{ Hz}$ ),  
15    12.48 (s, 1H)

#### 実施例 25 (本発明化合物 (I) の製造 (その 1))

ヘキサメチルホスホラミド 32 ml に水素化ナトリウム (60%油性) 0.74 g を懸濁し、約 0°C で 4-ヒドロキシ-3-[3-フェニル-1-オキソ-2-プロペニル]-6-メチル-2H-ピラン-2-オン 4.77 g を加え、室温に昇温して 37 分間攪拌した。  
20    次いで、ジメチル硫酸 2.82 g を加えて、室温で二日間攪拌した。その後、反応混合物を氷水に注加し、酢酸エチルで抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸マグネシウムで乾燥した後、濃縮した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィーに付して 4-メトキシ-3-[3-フェニル-1-オキソ-2-プロペニル]-6-メチル-2  
25    H-ピラン-2-オン [化合物番号 (1)] の淡黄色油状物 1.96 g を得た。

$^1\text{H-NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (ppm): 2.34 (s, 3H), 3.92 (s, 3H), 6.13 (s, 1H), 7.12 (d, 1H,  $J=16.1\text{ Hz}$ ), 7.35~7.45 (m, 3H), 7.52~7.62 (m, 2H), 7.

6 1 (d, 1H, J = 15.8 Hz)

実施例 26 (本発明化合物(I)の製造(その2))

4-ヒドロキシ-3-[3-フェニル-1-オキソ-2-プロペニル]-6-メチル-2H-ピ  
5 ラン-2-オンの代わりに、4-ヒドロキシ-3-[3-(2-クロロフェニル)-1-オキソ  
-2-プロペニル]-6-メチル-2H-ピラン-2-オン 7.00 g を用いた以外は、上記  
実施例 25 と同様にして、4-メトキシ-3-[3-(2-クロロフェニル)-1-オキソ-  
2-プロペニル]-6-メチル-2H-ピラン-2-オン [化合物番号(2)] 1.06 g を  
得た。

10 融点: 161~162°C

$^1\text{H-NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (ppm): 2.35 (s, 3H),  
3.95 (s, 3H), 6.13 (s, 1H), 7.12 (d, 1H, J = 16.0  
Hz), 7.20~7.40 (m, 2H), 7.40~7.45 (m, 1H), 7.  
66~7.75 (m, 1H), 8.02 (d, 1H, J = 16.0 Hz)

15

実施例 27 (本発明化合物(I)の製造(その3))

4-ヒドロキシ-3-[3-フェニル-1-オキソ-2-プロペニル]-6-メチル-2H-ピ  
ラン-2-オンの代わりに、4-ヒドロキシ-3-[3-(3-クロロフェニル)-1-オキソ  
-2-プロペニル]-6-メチル-2H-ピラン-2-オン 8.00 g を用いた以外は、上記  
20 実施例 25 と同様にして、4-メトキシ-3-[3-(3-クロロフェニル)-1-オキソ-  
2-プロペニル]-6-メチル-2H-ピラン-2-オン [化合物番号(3)] 1.26 g を得  
た。

融点: 122~123°C

$^1\text{H-NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (ppm): 2.35 (s, 3H),  
25 3.95 (s, 3H), 6.13 (s, 1H), 7.15 (d, 1H, J = 16.2  
Hz), 7.26~7.40 (m, 2H), 7.40~7.50 (m, 1H), 7.  
56~7.58 (m, 1H), 7.55 (d, 1H, J = 15.9 Hz)

## 実施例 28 (本発明化合物(I)の製造(その4))

ジメチルホルムアミド 130 ml に 4-ヒドロキシ-3-[3-(3-クロロフェニル)-1-オキシ-2-プロペニル]-6-メチル-2H-ピラン-2-オン 13.40 g を懸濁し、ここに水素化ナトリウム (60%油性) 2.03 g を約 0℃ で添付した。室温に昇  
 5 温して 30 分間攪拌した。次いで、臭化アリル 8.37 g を加えて、55℃ で 2 時間攪拌した。その後、反応混合物を氷水に注加し、酢酸エチルで抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸マグネシウムで乾燥した後、濃縮した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィーに付し、得られた固体を *t*-ブチルメチルエーテルで洗  
 10 浄して、4-アリルオキシ-3-[3-(3-クロロフェニル)-1-オキシ-2-プロペニル]-6-メチル-2H-ピラン-2-オン [化合物番号(4)] 1.60 g を得た。

融点: 81.5 ~ 82.5℃

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm): 2.33 (s, 3H), 4.69 (dt, 2H, J=1.5, 5.1 Hz), 5.34 (dd, 1H, J=1.0, 10.8 Hz), 5.42 (dd, 1H, J=1.0, 17.4 Hz), 5.  
 15 88 ~ 6.00 (m, 1H), 6.07 (s, 1H), 7.14 (d, 1H, J=16.2 Hz), 7.31 (q, 1H, J=7.4 Hz), 7.34 (dt, 1H, J=2.0, 6.6 Hz), 7.43 (br d, 1H, J=7.1 Hz), 7.54 (d, 1H, J=15.9 Hz), 7.54 (br s, 1H)

## 20 実施例 29 (本発明化合物(I)の製造(その5))

4-ヒドロキシ-3-[3-フェニル-1-オキシ-2-プロペニル]-6-メチル-2H-ピラン-2-オンの代わりに、4-ヒドロキシ-3-[3-(4-クロロフェニル)-1-オキシ-2-プロペニル]-6-メチル-2H-ピラン-2-オン 7.00 g を用いた以外は、上記  
 25 実施例 25 と同様にして、4-メトキシ-3-[3-(4-クロロフェニル)-1-オキシ-2-プロペニル]-6-メチル-2H-ピラン-2-オン [化合物番号(5)] 2.06 g を得た。

融点: 164 ~ 165℃

<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm): 2.35 (s, 3H),

3. 94 (s, 3H), 6. 13 (s, 1H), 7. 12 (d, 1H,  $J=15.6$  Hz), 7. 34 (d, 2H,  $J=8.5$  Hz), 7. 50 (d, 2H,  $J=8.5$  Hz), 7. 56 (d, 1H,  $J=16.0$  Hz)

5 実施例 30 (本発明化合物(I)の製造 (その6))

4-ヒドロキシ-3-[3-フェニル-1-オキソ-2-プロペニル]-6-メチル-2H-ピラン-2-オンの代わりに、4-ヒドロキシ-3-[3-(2-メチルフェニル)-1-オキソ-2-プロペニル]-6-メチル-2H-ピラン-2-オン 5. 49 g を用いた以外は、上記実施例 25 と同様にして、4-メトキシ-3-[3-(2-メチルフェニル)-1-オキソ-2-プロペニル]-6-メチル-2H-ピラン-2-オン [化合物番号(6)] 0. 46 g を得た。

融点：132～132. 5℃

$^1\text{H-NMR}$  (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (ppm) : 2. 35 (s, 3H), 2. 44 (s, 3H), 3. 95 (s, 3H), 6. 13 (s, 1H), 7. 07 (d, 1H,  $J=15.7$  Hz), 7. 14～7. 30 (m, 3H), 7. 58～7. 66 (m, 1H), 7. 94 (d, 1H,  $J=15.8$  Hz)

実施例 31 (本発明化合物(I)の製造 (その7))

4-ヒドロキシ-3-[3-フェニル-1-オキソ-2-プロペニル]-6-メチル-2H-ピラン-2-オンの代わりに、4-ヒドロキシ-3-[3-(3-メチルフェニル)-1-オキソ-2-プロペニル]-6-メチル-2H-ピラン-2-オン 3. 87 g を用いた以外は、上記実施例 25 と同様にして、4-メトキシ-3-[3-(3-メチルフェニル)-1-オキソ-2-プロペニル]-6-メチル-2H-ピラン-2-オン [化合物番号(7)] 1. 27 g を得た。

25 融点：113. 5～115℃

$^1\text{H-NMR}$  (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (ppm) : 2. 34 (s, 3H), 2. 36 (s, 3H), 3. 93 (s, 3H), 6. 12 (s, 1H), 7. 11 (d, 1H,  $J=15.9$  Hz), 7. 15～7. 30 (m, 2H), 7. 35～7.

4.0 (m, 2H), 7.58 (d, 1H,  $J=16.0$  Hz)

### 実施例 32 (本発明化合物(I)の製造 (その8))

ジメチルホルムアミド 100 ml に 4-ヒドロキシ-3-[3-(3-メチルフェニル)-1-オキシ-2-プロペニル]-6-メチル-2H-ピラン-2-オン 11.19 g、無水炭酸カリウム 11.44 g を懸濁し、ここに臭化アリル 10.37 g を加えて、50°C で 7 時間 30 分攪拌した。次いで、その後、反応混合物を氷水に注加し、酢酸エチルで抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸マグネシウムで乾燥した後、濃縮した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィーに付し、得られた固体を *t*-ブチルメチルエーテルで洗浄して、4-アリルオキシ-3-[3-(3-メチルフェニル)-1-オキシ-2-プロペニル]-6-メチル-2H-ピラン-2-オン [化合物番号 (8)] 2.78 g を得た。

融点: 70~70.5°C

$^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (ppm): 2.32 (s, 3H), 2.36 (s, 3H), 4.67 (dt, 2H,  $J=1.4, 5.2$  Hz), 5.32 (dd, 1H,  $J=1.0, 10.8$  Hz), 5.40 (dd, 1H,  $J=1.0, 17.4$  Hz), 5.70~5.98 (m, 1H), 6.06 (s, 1H), 7.09 (d, 1H,  $J=16.1$  Hz), 7.18 (d, 1H,  $J=7.6$  Hz), 7.25 (t, 1H,  $J=7.8$  Hz), 7.33~7.42 (2H), 7.57 (d, 1H,  $J=16.2$  Hz)

### 実施例 33 (本発明化合物(I)の製造 (その9))

4-ヒドロキシ-3-[3-フェニル-1-オキシ-2-プロペニル]-6-メチル-2H-ピラン-2-オンの代わりに、4-ヒドロキシ-3-[3-(4-メトキシフェニル)-1-オキシ-2-プロペニル]-6-メチル-2H-ピラン-2-オン 10.00 g を用いた以外は、上記実施例 25 と同様にして、4-メトキシ-3-[3-(4-メトキシフェニル)-1-オキシ-2-プロペニル]-6-メチル-2H-ピラン-2-オン (化合物番号 (9)) 4.40 g を得た。

融点：118～118.5℃

<sup>1</sup>H-NMR (300MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm) : 2.34 (s, 3H), 3.84 (s, 3H), 3.92 (s, 3H), 6.11 (s, 1H), 6.89 (dd, 2H, J=1.9, 8.8Hz), 6.98 (d, 1H, J=15.7Hz),  
 5 7.51 (dd, 2H, J=2.0, 8.7Hz), 7.55 (d, 1H, J=16.0Hz)

#### 実施例34 (本発明化合物(I)の製造 (その10))

4-ヒドロキシ-3-[3-フェニル-1-オキソ-2-プロペニル]-6-メチル-2H-ピ  
 10 ラン-2-オンの代わりに、4-ヒドロキシ-3-[3-(3-エトキシフェニル)-1-オ  
 キソ-2-プロペニル]-6-メチル-2H-ピラン-2-オン1.14gを、またジメチル  
 硫酸の代わりにジエチル硫酸0.70gを用いた以外は、上記実施例25と同様にし  
 て、4-エトキシ-3-[3-(3-エトキシフェニル)-1-オキソ-2-プロペニル]-6-  
 メチル-2H-ピラン-2 (化合物番号(10)) 0.18gを得た。

15 <sup>1</sup>H-NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm) : 1.40 (t, 3H, J=7.6Hz), 1.42 (t, 3H, J=7.1Hz), 2.33 (s, 3H), 4.05 (q, 2H, J=7.1Hz), 4.19 (q, 2H, J=7.1Hz), 6.08 (s, 1H), 6.92 (dd, 1H, J=2.7, 8.3Hz), 7.07 (d, 1H, J=15.9Hz), 7.06～7.29 (m, 3H), 7.55 (d, 1H  
 20 , J=15.9Hz)

#### 実施例35 (本発明化合物(I)の製造 (その11))

4-ヒドロキシ-3-[3-フェニル-1-オキソ-2-プロペニル]-6-メチル-2H-ピ  
 ラン-2-オンの代わりに、4-ヒドロキシ-3-[3-(3-エトキシフェニル)-1-オ  
 25 キソ-2-プロペニル]-6-メチル-2H-ピラン-2-オン3.00gを、またジメチル  
 硫酸の代わりに臭化アリル1.45gを用いた以外は、上記実施例25と同様にし  
 て、4-アリルオキシ-3-[3-(3-エトキシフェニル)-1-オキソ-2-プロペニル]-  
 6-メチル-2H-ピラン-2 (化合物番号(11)) 0.23gを得た。



融点：124～125℃

$^1\text{H-NMR}$  (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (ppm) : 1.42 (t, 3H,  $J=6.9\text{Hz}$ ), 2.32 (s, 3H), 4.05 (q, 2H,  $J=7.4\text{Hz}$ ), 4.67～4.68 (m, 2H), 5.33 (d, 1H,  $J=10.6\text{Hz}$ ), 5.41 (d, 1H,  $J=17.1\text{Hz}$ ), 5.87～5.98 (m, 1H), 6.07 (s, 1H), 6.92 (dd, 1H,  $J=2.0, 7.9\text{Hz}$ ), 7.08～7.33 (m, 3H), 7.09 (d, 1H,  $J=15.8\text{Hz}$ ), 7.55 (d, 1H,  $J=15.9\text{Hz}$ )

#### 10 実施例36 (本発明化合物(I)の製造(その12))

4-ヒドロキシ-3-[3-フェニル-1-オキソ-2-プロペニル]-6-メチル-2H-ピラン-2-オンの代わりに、4-ヒドロキシ-3-[3-(2-トリフルオロメチルフェニル)-1-オキソ-2-プロペニル]-6-メチル-2H-ピラン-2-オン2.50gを用いた以外は、上記実施例25と同様にして、4-メトキシ-3-[3-(2-トリフルオロメチルフェニル)-1-オキソ-2-プロペニル]-6-メチル-2H-ピラン-2-オン [化合物番号(12)] 0.42gを得た。

融点：149～149.5℃

$^1\text{H-NMR}$  (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (ppm) : 2.35 (s, 3H), 3.94 (s, 3H), 6.13 (s, 1H), 7.11 (d, 1H,  $J=15.7\text{Hz}$ ), 7.46 (t, 1H,  $J=7.5\text{Hz}$ ), 7.56 (t, 1H,  $J=7.4\text{Hz}$ ), 7.69 (d, 1H,  $J=7.8\text{Hz}$ ), 7.80 (d, 1H,  $J=7.7\text{Hz}$ ), 7.94 (dq, 1H,  $J=2.1, 15.7\text{Hz}$ )

#### 実施例37 (本発明化合物(I)の製造(その13))

4-ヒドロキシ-3-[3-フェニル-1-オキソ-2-プロペニル]-6-メチル-2H-ピラン-2-オンの代わりに、4-ヒドロキシ-3-[3-(3-トリフルオロメチルフェニル)-1-オキソ-2-プロペニル]-6-メチル-2H-ピラン-2-オン5.00gを用いた以外は、上記実施例25と同様にして、4-メトキシ-3-[3-(3-トリフルオロメチルフェニル)-1-オキソ-2-プロペニル]-6-メチル-2H-ピラン-2-オン [化合物番号(13)] 0.42gを得た。

ルフェニル)-1-オキソ-2-プロペニル]-6-メチル-2H-ピラン-2-オン [化合物  
番号 (13)] 0.44 g を得た。

融点: 120~121°C

<sup>1</sup>H-NMR (300MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm): 2.36 (s, 3H),  
5 3.96 (s, 3H), 6.14 (s, 1H), 7.22 (d, 1H, J=15.8  
Hz), 7.50 (t, 1H, J=7.8Hz), 7.62 (d, 1H, J=8.5  
Hz), 7.63 (d, 1H, J=15.8Hz), 7.74 (d, 1H, J=7.  
7Hz), 7.80 (s, 1H)

#### 10 実施例38 (本発明化合物(I)の製造 (その14))

4-ヒドロキシ-3-[3-(3-メチルフェニル)-1-オキソ-2-プロペニル]-6-メ  
チル-2H-ピラン-2-オンの代わりに、4-ヒドロキシ-3-[3-(3-トリフルオロメ  
チルフェニル)-1-オキソ-2-プロペニル]-6-メチル-2H-ピラン-2-オン 5.0  
0 g を用いた以外は、上記実施例32と同様にして、4-アリルオキシ-3-[3-(3-  
15 トリフルオロメチルフェニル)-1-オキソ-2-プロペニル]-6-メチル-2H-ピラン-  
2-オン [化合物番号 (14)] 1.02 g を得た。

融点: 102~103°C

<sup>1</sup>H-NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm): 2.34 (s, 3H),  
4.70 (dt, 2H, J=1.5, 5.1Hz), 5.35 (dd, 1H, J=1  
20 .2, 10.5Hz), 5.43 (dd, 1H, J=1.0, 17.3Hz), 5.  
90~6.00 (m, 1H), 6.09 (s, 1H), 7.21 (d, 1H, J=1  
6.1Hz), 7.50 (t, 1H, J=7.8Hz), 7.62 (d, 1H, J=  
8.8Hz), 7.62 (d, 1H, J=15.9Hz), 7.73 (d, 1H, J  
=7.8Hz), 7.79 (s, 1H)

25

#### 実施例39 (本発明化合物(I)の製造 (その15))

4-ヒドロキシ-3-[3-フェニル-1-オキソ-2-プロペニル]-6-メチル-2H-ピ  
ラン-2-オンの代わりに、4-ヒドロキシ-3-[3-(4-トリフルオロメチルフェニル

) -1-オキソ-2-プロペニル]-6-メチル-2H-ピラン-2-オン 5.57 g を用いた  
 以外は、上記実施例 25 と同様にして、4-メトキシ-3-[3-(4-トリフルオロメチ  
 ルフェニル)-1-オキソ-2-プロペニル]-6-メチル-2H-ピラン-2-オン [化合物  
 番号 (15)] 1.22 g を得た。

5 融点: 136~138℃

$^1\text{H-NMR}$  (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (ppm): 2.36 (s, 3H),  
 3.96 (s, 3H), 6.14 (s, 1H), 7.24 (d, 1H,  $J=16.0$   
 Hz), 7.58~7.72 (m, 5H)

10 実施例 40 (本発明化合物(I)の製造 (その16))

4-ヒドロキシ-3-[3-フェニル-1-オキソ-2-プロペニル]-6-メチル-2H-ピ  
 ラン-2-オンの代わりに、4-ヒドロキシ-3-[3-(2-ニトロフェニル)-1-オキシ  
 -2-プロペニル]-6-メチル-2H-ピラン-2-オン 10.0 g を用いた以外は、上記  
 実施例 25 と同様にして、4-メトキシ-3-[3-(2-ニトロフェニル)-1-オキシ  
 15 2-プロペニル]-6-メチル-2H-ピラン-2-オン [化合物番号 (16)] 0.97 g  
 を得た。

融点: 157~158℃

$^1\text{H-NMR}$  (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (ppm): 2.35 (s, 3H),  
 3.98 (s, 3H), 6.15 (s, 1H), 7.03 (d, 1H,  $J=16.0$   
 20 Hz), 7.53 (dt, 1H,  $J=1.3, 8.4$  Hz), 7.65 (dt, 1H  
 ,  $J=0.9, 7.2$  Hz), 7.74 (dd, 1H,  $J=1.1, 7.8$  Hz),  
 7.98 (d, 1H,  $J=15.8$  Hz), 8.03 (dd, 1H,  $J=1.2, 9$   
 .0 Hz)

25 実施例 41 (本発明化合物(I)の製造 (その17))

4-ヒドロキシ-3-[3-フェニル-1-オキソ-2-プロペニル]-6-メチル-2H-ピ  
 ラン-2-オンの代わりに、4-ヒドロキシ-3-[3-(3-ニトロフェニル)-1-オキシ  
 -2-プロペニル]-6-メチル-2H-ピラン-2-オン 4.13 g を用いた以外は、上記

実施例 25 と同様にして、4-メトキシ-3-[3-(3-ニトロフェニル)-1-オキシ-2-プロペニル]-6-メチル-2H-ピラン-2-オン [化合物番号 (17)] 1.12 g を得た。

融点：184～184.5℃

- 5 <sup>1</sup>H-NMR (300MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm) : 2.37 (s, 3H), 3.98 (s, 3H), 6.15 (s, 1H), 7.30 (d, 1H, J=15.8 Hz), 7.56 (t, 1H, J=8.0 Hz), 7.65 (d, 1H, J=15.9 Hz), 7.88 (d, 1H, J=7.7 Hz), 8.22 (dd, 1H, J=1.8, 8.8 Hz), 8.40 (t, 1H, J=1.9 Hz)

10

実施例 42 (本発明化合物(I)の製造 (その18))

4-ヒドロキシ-3-[3-フェニル-1-オキシ-2-プロペニル]-6-メチル-2H-ピラン-2-オンの代わりに、4-ヒドロキシ-3-[3-(4-ニトロフェニル)-1-オキシ-2-プロペニル]-6-メチル-2H-ピラン-2-オン 10.0 g を用いた以外は、上記

- 15 実施例 25 と同様にして、4-メトキシ-3-[3-(4-ニトロフェニル)-1-オキシ-2-プロペニル]-6-メチル-2H-ピラン-2-オン [化合物番号 (18)] 2.94 g を得た。

融点：222～222.5℃

- 20 <sup>1</sup>H-NMR (300MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm) : 2.37 (s, 3H), 3.98 (s, 3H), 6.15 (s, 1H), 7.33 (d, 1H, J=16.0 Hz), 7.65 (d, 1H, J=15.8 Hz), 7.71 (d, 2H, J=8.7 Hz), 8.23 (d, 2H, J=8.7 Hz)

実施例 43 (本発明化合物(I)の製造 (その19))

- 25 4-ヒドロキシ-3-[3-フェニル-1-オキシ-2-プロペニル]-6-メチル-2H-ピラン-2-オンの代わりに、4-ヒドロキシ-3-[3-(3-メトキシメチルフェニル)-1-オキシ-2-プロペニル]-6-メチル-2H-ピラン-2-オン 4.34 g を用いた以外は、上記実施例 25 と同様にして、4-メトキシ-3-[3-(3-メトキシメチルフェ

ニル) -1-オキソ-2-プロペニル]-6-メチル-2H-ピラン-2-オン [化合物番号 (19)] の淡黄色油状物 1.95 g を得た。

$^1\text{H-NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (ppm) : 2.35 (s, 3H), 3.40 (s, 3H), 3.93 (s, 3H), 4.46 (s, 2H), 6.12 (s, 1H), 7.14 (d, 1H,  $J=15.7\text{ Hz}$ ), 7.32~7.38 (m, 2H), 7.45~7.52 (m, 1H), 7.54 (s, 1H), 7.61 (d, 1H,  $J=16.1\text{ Hz}$ )

#### 実施例 44 (本発明化合物(I)の製造 (その20))

4-ヒドロキシ-3-[3-フェニル-1-オキソ-2-プロペニル]-6-メチル-2H-ピラン-2-オンの代わりに、4-ヒドロキシ-3-[3-(2-ジフルオロメトキシフェニル)-1-オキソ-2-プロペニル]-6-メチル-2H-ピラン-2-オン 2.00 g を用いた以外は、上記実施例 25 と同様にして、4-メトキシ-3-[3-(2-ジフルオロメトキシフェニル)-1-オキソ-2-プロペニル]-6-メチル-2H-ピラン-2-オン [化合物番号 (20)] の淡黄色結晶 0.65 g を得た。

融点 : 126~126.5°C

$^1\text{H-NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (ppm) : 2.35 (s, 3H), 3.94 (s, 3H), 6.13 (s, 1H), 6.53 (t, 1H,  $J=73.6\text{ Hz}$ ), 7.13~7.26 (m, 3H), 7.38 (dt, 1H,  $J=1.8, 7.9\text{ Hz}$ ), 7.70 (dd, 1H,  $J=1.5, 7.8\text{ Hz}$ ), 7.87 (d, 1H,  $J=16.1\text{ Hz}$ )

#### 実施例 45 (本発明化合物(I)の製造 (その21))

4-ヒドロキシ-3-[3-フェニル-1-オキソ-2-プロペニル]-6-メチル-2H-ピラン-2-オンの代わりに、4-ヒドロキシ-3-[3-(3-ジフルオロメトキシフェニル)-1-オキソ-2-プロペニル]-6-メチル-2H-ピラン-2-オン 2.00 g を用いた以外は、上記実施例 25 と同様にして、4-メトキシ-3-[3-(3-ジフルオロメトキシフェニル)-1-オキソ-2-プロペニル]-6-メチル-2H-ピラン-2-オン [化合物

番号 (21) ] 0.20 g を得た。

融点 : 114.5 ~ 115 °C

<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm) : 2.36 (s, 3H),  
3.95 (s, 3H), 6.13 (s, 1H), 6.52 (t, 1H, J = 73.8  
5 Hz), 7.13 ~ 7.47 (m, 4H), 7.15 (d, 1H, J = 16.2 Hz)  
, 7.57 (d, 1H, J = 15.9 Hz)

#### 実施例 46 (本発明化合物(I)の製造 (その 22))

4-ヒドロキシ-3-[3-フェニル-1-オキソ-2-プロペニル]-6-メチル-2H-ピ  
10 ラン-2-オンの代わりに、4-ヒドロキシ-3-[3-(4-ジフルオロメトキシ)フェニ  
ル-1-オキソ-2-プロペニル]-6-メチル-2H-ピラン-2-オン 2.55 g を用いた  
以外は、上記実施例 25 と同様にして、4-メトキシ-3-[3-(4-ジフルオロメトキシ)  
フェニル-1-オキソ-2-プロペニル]-6-メチル-2H-ピラン-2-オン [化合物  
番号 (22) ] 1.12 g を得た。

15 融点 : 105 ~ 105.5 °C

<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm) : 2.35 (s, 3H),  
3.94 (s, 3H), 6.13 (s, 1H), 6.55 (t, 1H, J = 73.3  
Hz), 7.10 (d, 1H, J = 16.1 Hz), 7.11 (d, 2H, J = 8.  
4 Hz), 7.57 (d, 2H, J = 9.0 Hz), 7.58 (d, 1H, J = 15  
20 . 2 Hz)

#### 実施例 47 (本発明化合物(I)の製造 (その 23))

4-ヒドロキシ-3-[3-フェニル-1-オキソ-2-プロペニル]-6-メチル-2H-ピ  
ラン-2-オンの代わりに、4-ヒドロキシ-3-[3-(2-トリフルオロメトキシ)フェ  
25 ニル-1-オキソ-2-プロペニル]-6-メチル-2H-ピラン-2-オン 1.85 g を用い  
た以外は、上記実施例 25 と同様にして、4-メトキシ-3-[3-(2-トリフルオロメ  
トキシ)フェニル-1-オキソ-2-プロペニル]-6-メチル-2H-ピラン-2-オン [化  
合物番号 (23) ] 0.52 g を得た。

融点：123～123.5℃

<sup>1</sup>H-NMR (300MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm) : 2.35 (s, 3H),  
3.94 (s, 3H), 6.13 (s, 1H), 7.19 (d, 1H, J=16.2  
Hz), 7.26～7.35 (m, 2H), 7.41 (dt, 1H, J=1.7, 7  
5 .9Hz), 7.74 (dd, 1H, J=1.5, 7.7Hz), 7.84 (d, 1  
H, J=16.1Hz)

#### 実施例48 (本発明化合物(I)の製造(その24))

4-ヒドロキシ-3-[3-フェニル-1-オキソ-2-プロペニル]-6-メチル-2H-ピ  
10 ラン-2-オンの代わりに、4-ヒドロキシ-3-[3-(3-トリフルオロメトキシ)フェ  
ニル-1-オキソ-2-プロペニル]-6-メチル-2H-ピラン-2-オン1.41gを用い  
た以外は、上記実施例25と同様にして、4-メトキシ-3-[3-(3-トリフルオロメ  
トキシ)フェニル-1-オキソ-2-プロペニル]-6-メチル-2H-ピラン-2-オン [化  
合物番号(24)] 0.51gを得た。

15 融点：98～98.5℃

<sup>1</sup>H-NMR (300MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm) : 2.36 (s, 3H),  
3.95 (s, 3H), 6.13 (s, 1H), 7.17 (d, 1H, J=16.1  
Hz), 7.22 (dd, 1H, J=1.6, 9.0Hz), 7.36～7.46 (m,  
2H), 7.50 (d, 1H, J=7.9Hz), 7.58 (d, 1H, J=1  
20 6.0Hz)

#### 実施例49 (本発明化合物(I)の製造(その25))

4-ヒドロキシ-3-[3-フェニル-1-オキソ-2-プロペニル]-6-メチル-2H-ピ  
ラン-2-オンの代わりに、4-ヒドロキシ-3-[3-(4-トリフルオロメトキシ)フェ  
25 ニル-1-オキソ-2-プロペニル]-6-メチル-2H-ピラン-2-オン1.60gを用い  
た以外は、上記実施例25と同様にして、4-メトキシ-3-[3-(4-トリフルオロメ  
トキシ)フェニル-1-オキソ-2-プロペニル]-6-メチル-2H-ピラン-2-オン [化  
合物番号(25)] 1.39gを得た。

淡黄色油状

$^1\text{H-NMR}$  (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (ppm) : 2.36 (s, 3H),  
 3.95 (s, 3H), 6.13 (s, 1H), 7.14 (d, 1H,  $J=16.2$   
 Hz), 7.22 (d, 2H,  $J=8.5$  Hz), 7.60 (d, 2H,  $J=8.7$   
 5 Hz), 7.60 (d, 1H,  $J=15.8$  Hz)

実施例50 (本発明化合物(I)の製造(その26))

4-ヒドロキシ-3-[3-フェニル-1-オキソ-2-プロペニル]-6-メチル-2H-ピ  
 ラン-2-オンの代わりに、4-ヒドロキシ-3-[3-(2-トリフルオロメチルチオ)フ  
 10 エニル-1-オキソ-2-プロペニル]-6-メチル-2H-ピラン-2-オン0.96gを用  
 いた以外は、上記実施例25と同様にして、4-メトキシ-3-[3-(2-トリフルオロ  
 メチルチオ)フェニル-1-オキソ-2-プロペニル]-6-メチル-2H-ピラン-2-オン  
 [化合物番号(26)] 0.16gを得た。

融点: 111~112°C

15  $^1\text{H-NMR}$  (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (ppm) : 2.36 (s, 3H),  
 3.94 (s, 3H), 6.14 (s, 1H), 7.14 (d, 1H,  $J=16.1$   
 Hz), 7.42 (dt, 1H,  $J=1.3, 7.7$  Hz), 7.53 (t, 1H,  
 $J=7.6$  Hz), 7.75 (d, 1H,  $J=7.6$  Hz), 7.84 (dd, 1H,  
 $J=1.1, 7.8$  Hz), 8.23 (d, 1H,  $J=15.9$  Hz)

20

実施例51 (本発明化合物(I)の製造(その27))

4-ヒドロキシ-3-[3-フェニル-1-オキソ-2-プロペニル]-6-メチル-2H-ピ  
 ラン-2-オンの代わりに、4-ヒドロキシ-3-{3-[3-(1,1,2,2-テトラフル  
 オロエトキシ)フェニル]-1-オキソ-2-プロペニル}-6-メチル-2H-ピラン-2-オ  
 25 ン1.38gを用いた以外は、上記実施例25と同様にして、4-メトキシ-3-{3-[  
 3-(1,1,2,2-テトラフルオロエトキシ)フェニル]-1-オキソ-2-プロペニ  
 ル}-6-メチル-2H-ピラン-2-オン [化合物番号(27)] 0.15gを得た。

融点: 112~113°C



$^1\text{H-NMR}$  (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (ppm) : 2.36 (s, 3H),  
 3.95 (s, 3H), 5.91 (tt, 1H,  $J=2.8, 52.8\text{Hz}$ ), 6.  
 13 (s, 1H), 7.16 (d, 1H,  $J=16.0\text{Hz}$ ), 7.20~7.53  
 (m, 4H), 7.58 (d, 1H,  $J=15.9\text{Hz}$ )

5

#### 実施例52 (本発明化合物(I)の製造(その28))

4-ヒドロキシ-3-[3-フェニル-1-オキソ-2-プロペニル]-6-メチル-2H-ピ  
 ラン-2-オンの代わりに、4-ヒドロキシ-3-{3-[4-(1, 1, 2, 2-テトラフル  
 オロエトキシ)フェニル]-1-オキソ-2-プロペニル}-6-メチル-2H-ピラン-2-オ  
 ン1.30gを用いた以外は、上記実施例25と同様にして、4-メトキシ-3-{3-[  
 4-(1, 1, 2, 2-テトラフルオロエトキシ)フェニル]-1-オキソ-2-プロペニ  
 ル}-6-メチル-2H-ピラン-2-オン [化合物番号(28)] 0.18gを得た。

淡黄色油状

$^1\text{H-NMR}$  (300MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (ppm) : 2.35 (s, 3H),  
 3.95 (s, 3H), 5.91 (tt, 1H,  $J=2.8, 52.7\text{Hz}$ ), 6.  
 13 (s, 1H), 7.13 (d, 1H,  $J=15.9\text{Hz}$ ), 7.22 (d, 2H  
 ,  $J=8.5\text{Hz}$ ), 7.58 (d, 2H,  $J=8.7\text{Hz}$ ), 7.60 (d, 1H  
 ,  $J=14.2\text{Hz}$ )

#### 20 実施例53 (I型コラーゲン遺伝子の転写調節領域と結合されたレポーター遺伝子を 有するプラスミドの調製)

正常ヒト胎児皮膚線維芽細胞 (Clontech、カタログ番号CC-2509)  
 $1 \times 10^8$  細胞を37℃、5%  $\text{CO}_2$  雰囲気下で一晩培養した。培養された細胞をP  
 BSで2回洗浄した後、PBS 3mlを加えセルスクレイパー (Nalgen、カ  
 タログ番号179693) を用いて細胞を器壁から剥がした。剥がした細胞を遠心分  
 25 離 (1,500rpm、4℃、15分間) により集め、これをPBS 20mlに懸  
 濁して再度遠心分離した。得られた沈殿に、DNA Extraction Kit (  
 Stratagene、カタログ番号200600) のSolution2を11m

1、*pronase*を $4.8\mu\text{l}$ それぞれ加えて $60^{\circ}\text{C}$ にて1時間振とうした後、得られた混合液を氷中に10分間放置した。次に、当該混合液に上記キットの*Solution 3*を $4\text{ml}$ 加えて混合した後、これを氷中に5分間放置した。遠心分離（ $3,000\text{rpm}$ 、 $4^{\circ}\text{C}$ 、15分間）し、上清を回収した。回収された上清に、当該  
5 上清 $1\text{ml}$ 当たり $2\mu\text{l}$ の*RNAse*を加え、 $37^{\circ}\text{C}$ で15分間放置した。この混合液に、2倍容量のエタノールを加えて混合し、出現した白い糸状の物質（ゲノムDNA）を回収した。回収されたゲノムDNAを70%エタノールで洗浄した後、風乾した。風乾されたゲノムDNAを $10\text{mM Tris-HCl}$ 、 $1\text{mM EDTA}$ （ $\text{pH } 8.0$ ）（以下、TEと記す。） $500\mu\text{l}$ に溶解した。

10 得られたゲノムDNA溶解液（ゲノムDNA  $1\mu\text{g}$ 相当量）と、配列番号1で示される塩基配列からなるオリゴヌクレオチド及び配列番号2で示される塩基配列からなるオリゴヌクレオチド（ $10\text{pmol}/\mu\text{l}$ ）各 $1\mu\text{l}$ 、蒸留水  $29\mu\text{l}$ 、*TaKaRa LA Taq*（宝酒造、カタログ番号RR002A）に添付された*buffer*  $5\mu\text{l}$ 、 $\text{Mg}^{2+}$ 溶液  $5\mu\text{l}$ 、*dNTP mixture*  $5\mu\text{l}$ 及び*TaKaRa LA Taq*（宝酒造、カタログ番号RR002A） $0.5\mu\text{l}$ を混合した。得られた混合液を $94^{\circ}\text{C}$ 、5分間保温した後、 $94^{\circ}\text{C}$ 、1分間次いで $60^{\circ}\text{C}$ 、1分間さらに $72^{\circ}\text{C}$ 、1分間の保温を1サイクルとしてこれを30サイクル行った。当該混合液を2%アガロースゲル電気泳動に供し、約 $0.5\text{kb}$ のDNAを回収した。回収されたDNAをフェノール・クロロホルム処理した後、エタノール沈殿することにより  
15 DNAを回収した。回収されたDNAを超純水に溶解し、この溶解液に*NheI*  $2.5\mu\text{l}$ 及び*HindIII*  $2.5\mu\text{l}$ を加え、 $37^{\circ}\text{C}$ で3時間保温した。次いで、当該溶解液を2%アガロースゲル電気泳動に供し、約 $0.5\text{kb}$ のDNAを回収した。回収されたDNAをエタノール沈殿することにより再びDNA（以下、コラーゲンプロモーターDNAと記す。）を回収した。

25 一方、ホタルルシフェラーゼをコードする塩基配列を有するベクター*pGL3*（プロメガ、カタログ番号E1751）を*NheI*及び*HindIII*で消化した後、上記と同様にアガロースゲル電気泳動に供し、約 $5\text{kb}$ のDNAを回収した。回収されたDNAをエタノール沈殿することにより再びDNAを回収した。回収されたDNAに

蒸留水  $44\mu\text{l}$ 、Alkaline Phosphatase（宝酒造、カタログ番号 2120A）に添付された Buffer  $5\mu\text{l}$  及び Alkaline Phosphatase（宝酒造、カタログ番号 2120A） $1\mu\text{l}$  を加えて、この混合液を  $65^{\circ}\text{C}$  で 30 分間保温した。次に、当該混合液を 2 回フェノール・クロロホルム処理した後、エタノール沈澱することにより DNA（以下、Luc ベクター DNA と記す。）を回収した。次いで、上記コラーゲンプロモーター DNA 約  $20\text{ng}$  と Luc ベクター DNA 約  $20\text{ng}$  とを混合した後、DNA Ligation kit Ver 2 酵素溶液を同量添加して  $16^{\circ}\text{C}$  で一昼夜保温した。当該混合液に大腸菌 5Hd $\alpha$ （TOYOBO、カタログ番号 DNA-903）を加えて氷中に 30 分間放置し、次いで  $42^{\circ}\text{C}$ 、45 秒間保温した後、得られた大腸菌を  $50\mu\text{g}/\text{ml}$  アンピシリンナトリウム（ナカライ、カタログ番号 027-39）を含む LB プレートに播種し、 $37^{\circ}\text{C}$ 、一昼夜放置した。出現したシングルコロニーを  $50\mu\text{g}/\text{ml}$  アンピシリンを含む LB 培地  $2\text{ml}$  で  $37^{\circ}\text{C}$ 、12 時間培養した。得られた培養液から AUTOMATIC DNA ISOLATION SYSTEM PI-50（KURABO）を用いてプラスミド DNA を調製した。調製されたプラスミド DNA の塩基配列を DNA シークエンサーで分析した。その結果、当該プラスミド（以下、COL-Luc と記す。）は、ヒト I 型コラーゲン  $\alpha 2$  鎖遺伝子の転写調節領域の  $-342\sim+57$ （転写開始点を  $+1$  とする。）の塩基配列の下流に、ホタルルシフェラーゼをコードする塩基配列が接続されてなる塩基配列を保有していることが確認された。

20

実施例 54（レポーター遺伝子の発現量を指標とした被験化合物が有する I 型コラーゲン遺伝子の転写調節能力の測定）

正常ヒト胎児皮膚線維芽細胞  $1 \times 10^6$  細胞を  $100\text{mm}$  ディッシュに播種し、非働化牛胎児血清（以下、FBS と記す。Gibco、カタログ番号 21140-079）を 10（v/v）% 含む Dulbecco's-MEM（日水製薬、カタログ番号 05919）培地（以下、当該培地を D-MEM（+）と記す。）中で  $37^{\circ}\text{C}$ 、5%  $\text{CO}_2$  雰囲気下において一晩培養した。次いで培地を、FBS を含まない Dulbecco's-MEM 培地（以下、当該培地を D-MEM（-）と記す。）に置換し

た。

D-MEM (一) 300  $\mu$ l に、COL-Luc 12  $\mu$ g を加え、得られた混合液を室温で45分間放置した(溶液1)。また、D-MEM (一) 300  $\mu$ l に Lipofectine (Gibco、カタログ番号18292-011) 20  $\mu$ l を  
5 加え、得られた混合液を室温で45分間放置した(溶液2)。次に、溶液1と溶液2とを混合し、これを室温で10分間放置した後、当該混合液にD-MEM (一) 5.4 ml を加えて混合した。当該混合液を前記正常ヒト胎児皮膚線維芽細胞に添加した後、当該細胞を37℃、5%CO<sub>2</sub>雰囲気下で終夜培養した。翌日、ディッシュから培養上清を除き、細胞をPBSで2回洗浄した後、0.25%トリプシンを含むPB  
10 S 1 ml を添加して細胞を剥がした。当該細胞にD-MEM (+) を加えてよく混合した後、当該細胞懸濁液を12ウェルプレートに1 ml ずつ分注し、これを37℃、5%CO<sub>2</sub>雰囲気下で1時間培養した。

このようにして培養された細胞に、前記化合物番号(1)～(8)又は(10)～(28)で示される本発明化合物(I)をそれぞれ1 mMとなるようジメチルスルホキシド(以下、DMSOと記す。)にそれぞれ溶解させてなる溶液を1  $\mu$ l 添加した(最終濃度1  $\mu$ M)。また、前記化合物番号(9)で示される本発明化合物(I)の場合は、当該化合物が10 mMとなるようDMSOに溶解させてなる溶液を1  $\mu$ l 添加した(最終濃度10  $\mu$ M)。対照としては、DMSOを1  $\mu$ l 添加した。

1時間後、TGF- $\beta$  (Pepr o Tech) の5  $\mu$ g/ml 水溶液または蒸留  
20 水を1  $\mu$ l 添加し、37℃、5%CO<sub>2</sub>雰囲気下でさらに24時間培養した。培養された細胞をPBSで2回洗浄した後、これに細胞溶解剤(東洋インキ、カタログ番号PD10) 150  $\mu$ l を加えセルスクレイパー(Nalgen、カタログ番号179693)を用いて細胞を器壁から剥がした。得られた細胞懸濁液を回収した後、この細胞懸濁液を遠心分離(15,000 rpm、4℃、5分間)することにより、上清  
25 を回収した。回収された上清各15  $\mu$ l を96ウェルプレートに移した後、MICROLUMAT LB96P (EG&G BERTHOLD社製)を用いて、Lucアッセイ溶液(20 mM Tricine (pH7.8)、2.67 mM MgSO<sub>4</sub>、0.1 mM EDTA、33.3 mM DTT、270  $\mu$ M Coenzyme A

、530  $\mu$ M ATP、470  $\mu$ M Luciferin) 50  $\mu$ lを当該プレートに自動分注した後、各ウェル内の発光量を測定した (Delay : 1.6秒、Measure Interval : 5秒)。

一方、回収された上清5  $\mu$ lまたは細胞溶解剤5  $\mu$ lを、予め96ウェルプレートに分注された5倍希釈Protein Assay溶液 (Bio-Rad、カタログ番号500-0006) 200  $\mu$ lに加えて振とう混合した後、マイクロプレートリーダー (Bio-Rad、Benchmark) を用いて各ウェル内の595 nmの吸光度を測定した。得られた値を基にし、次式に従って転写活性を算出した。

転写活性 = [発光量 (上清添加区) - 発光量 (細胞溶解剤添加区)] / [595 nm 吸光度 (上清添加区) - 595 nm 吸光度 (細胞溶解剤添加区)]

次に、算出された転写活性を基にし、次式に従って、TGF- $\beta$ が有するI型コラーゲン遺伝子の転写促進能力に対する被験化合物の阻害効果を阻害度として算出した。

阻害度 = [転写活性 (DMSO及びTGF- $\beta$ 添加試験区) - 転写活性 (化合物及びTGF- $\beta$ 添加試験区)] / [転写活性 (DMSO及びTGF- $\beta$ 添加試験区) - 転写活性 (DMSO及びTGF- $\beta$ 無添加試験区)] x 100

上記の化合物番号(1)~(28)で示される本発明化合物(I)の阻害度は、いずれも70以上であった。これらの化合物が、TGF- $\beta$ が有するI型コラーゲン遺伝子の転写促進能力を阻害し、I型コラーゲン遺伝子の転写を抑制する能力を有することが確認された。

#### 実施例55 (本発明化合物(I)の投与による糖尿病性腎症の改善)

糖尿病性腎症モデル動物として、9週齢の雄のC57BL/KeJ Jcl-db/dbマウス [日本チャールス・リバー(株)] を1群当り10匹用いた。また、対照動物として、9週齢の雄のC57BL/KeJ Jcl-db/mマウス [日本チャールス・リバー(株)] 10匹を用いた。

化合物番号(7)で示される本発明化合物(I) [以下、本発明化合物(7)と記す。] または化合物番号(27)で示される本発明化合物(I) [以下、本発明化合物(7)と記す。] と基礎飼料 (CRF-1、オリエンタル酵母工業) とをそれぞれ秤量して

均一に混合し、本発明化合物含有飼料を調製した。なお、上記マウス 1 匹当たりの体重量及び摂餌量を飼育 2 週ごとに測定し、その値を基にして基礎飼料と混合する試験物質量を決定した。このようにして調製された本発明化合物含有飼料を、上記の糖尿病性腎症モデル動物に 8 週間自由摂食させた（化合物投与群）。陽性対照投与群として、上記の糖尿病性腎症モデル動物を、基礎飼料を自由摂食させながら飼育し、TGF- $\beta$  阻害剤であるハロフギノンを隔日に腹腔内投与した。非投与群として、上記の糖尿病性腎症モデル動物 1 群を、基礎飼料を自由摂食させて飼育した。また、対照群として、上記の対照動物 1 群を、基礎飼料を自由摂食させて飼育した。

8 週間の飼育の後、各群のマウスから 1 日間尿を採取し、尿量を測定した。また、採取された尿の尿中アルブミン濃度を Albuwell M (EXOCCELL 社) にて測定し、1 日間に排泄された尿中アルブミン量を算出した。得られた結果の統計処理としては、非投与群と他の各群との 2 群間でそれぞれ分散比の F 検定を行い、分散に有意差がない場合は Student の t 検定（片側）を、分散に有意差がある場合は Aspin-Weilch 検定（片側）を行った。結果を表 4 に示す。本発明化合物（7）及び本発明化合物（27）が糖尿病性腎症を改善する能力を有することが確認された。

表 4

群	動物	投与物質	投与量	尿中 アルブミン量	検定
非投与群	腎症モデル 動物	—	0	60.91	—
陽性対照 投与群	腎症モデル 動物	ハロフギノン	40 $\mu$ g/2日	36.70	p<0.01
化合物(7) 投与群	腎症モデル 動物	本発明化合物 (7)	10mg/kg体重/日	38.39	p<0.01
化合物(27) 投与群	腎症モデル 動物	本発明化合物 (27)	10mg/kg体重/日	44.12	p<0.05
対照群	対照動物	—	0	37.21	p<0.05

### 産業上の利用の可能性

- 本発明により、組織における I 型コラーゲン遺伝子の発現量を減少させ、コラーゲン蓄積量を低下させることにより、組織の線維化を改善させる組成物（即ち、コラーゲン蓄積抑制剤や線維症治療剤）の開発・提供が可能となる。また、毛髪の退行期への移行の  $TGF-\beta$  による促進を阻害して毛髪成長期の延長を導くことにより養毛効果を得るための組成物（即ち、養毛剤）の開発・提供も可能となる。

### 配列表フリーテキスト

#### 10 配列番号 1

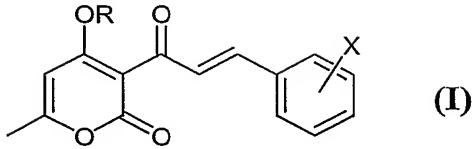
コラーゲンプロモーター DNA を増幅するために設計されたオリゴヌクレオチドプライマー

#### 配列番号 2

- コラーゲンプロモーター DNA を増幅するために設計されたオリゴヌクレオチドプライマー

## 請求の範囲

## 1. 式 (I)



[式中、Xは水素原子、ハロゲン原子、ハロゲン原子もしくはC 1－C 4アルコキシ基で置換されていてもよいC 1－C 4アルキル基、ニトロ基、C 1－C 4アルコキシ基、又は、－WR<sup>1</sup>基（Wは酸素原子又は硫黄原子を表し、R<sup>1</sup>はハロゲン原子で置換されたC 1－C 4アルキル基を表す。）を表し、RはC 1－C 4アルキル基、C 3－C 4アルケニル基又はC 3－C 4アルキニル基を表す。]

で示される 2-ピロン化合物。

- 10 2. RがC 1－C 4アルキル基又はC 3－C 4アルケニル基である請求項 1 記載の 2-ピロン化合物。

3. Rがメチル基、エチル基又はアリル基である請求項 1 記載の 2-ピロン化合物。

- 15 4. Xが水素原子、ハロゲン原子、ハロゲン原子で置換されていてもよいC 1－C 4アルキル基又はニトロ基である請求項 1 記載の 2-ピロン化合物。

5. Xが水素原子、ハロゲン原子、C 1－C 4アルキル基、ニトロ基又はトリフルオロメチル基である請求項 1 記載の 2-ピロン化合物。

20

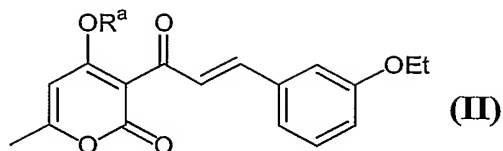
6. Xが水素原子、塩素原子、メチル基、ニトロ基又はトリフルオロメチル基である請求項 1 記載の 2-ピロン化合物。

7. Rがメチル基である請求項 4 記載の 2-ピロン化合物。

25



8. Xが塩素原子、メチル基又はトリフルオロメチル基であり、Rがエチル基又はアリル基である請求項4記載の2-ピロン化合物。
9. Xが $-WR^1$ 基（Wは酸素原子又は硫黄原子を表し、 $R^1$ はハロゲン原子で置換されたC1-C4アルキル基を表す。）である請求項1記載の2-ピロン化合物。
10.  $R^1$ が1以上のフッ素原子で置換されたC1-C4アルキル基である請求項9記載の2-ピロン化合物。
- 10 11.  $R^1$ がジフルオロメチル基、トリフルオロメチル基又は1, 1, 2, 2-テトラフルオロエチル基である請求項9記載の2-ピロン化合物。
12. Wが酸素原子である請求項9記載の2-ピロン化合物。
- 15 13. Wが硫黄原子であり、 $R^1$ がトリフルオロメチル基である請求項9記載の2-ピロン化合物。
14. Rがメチル基である請求項9記載の2-ピロン化合物。
- 20 15. XがC1-C4アルコキシ基である請求項1記載の2-ピロン化合物。
16. Xがメトキシ基又はエトキシ基である請求項15記載の2-ピロン化合物。
17. Rがメチル基、エチル基又はアリル基である請求項15記載の2-ピロン化合物。
- 25 物。
18. 式 (II)

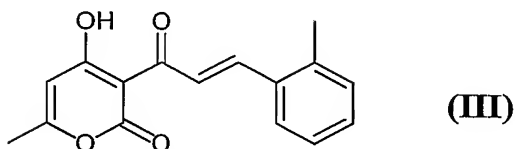


[式中、R<sup>a</sup>はエチル基又はアリル基を表す。]  
で示される 2-ピロン化合物。

- 5 19. Xが、C1-C4アルコキシ基で置換されたC1-C4アルキル基である請求項1記載の2-ピロン化合物。

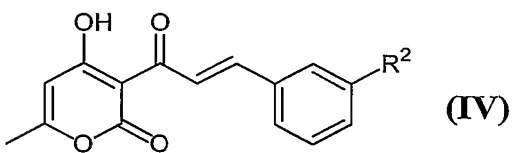
20. Xがメトキシメチル基である請求項19記載の2-ピロン化合物。

- 10 21. 式 (III)



で示される 4-ヒドロキシ-2-ピロン化合物。

22. 式 (IV)

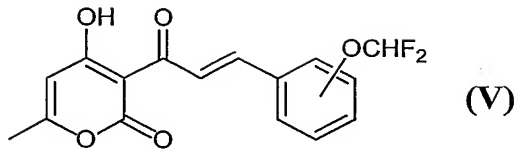


15

[式中、R<sup>2</sup>はエトキシ基、メトキシメチル基又は1,1,2,2-テトラフルオロエトキシ基を表す。]

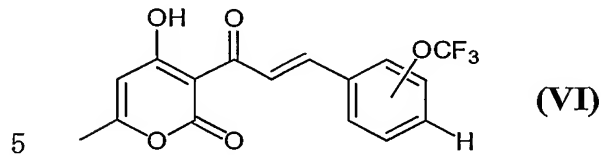
で示される 4-ヒドロキシ-2-ピロン化合物。

- 20 23. 式 (V)



で示される 4-ヒドロキシ-2-ピロン化合物。

24. 式 (VI)



で示される 4-ヒドロキシ-2-ピロン化合物。

25. I 型コラーゲン遺伝子の転写を抑制するための、請求項 1 記載の 2-ピロン化合物の使用。

10

26. 有効成分としての請求項 1 記載の 2-ピロン化合物と不活性担体とを含有することを特徴とする I 型コラーゲン遺伝子転写抑制組成物。

27. I 型コラーゲン遺伝子の発現量を減少させてコラーゲン蓄積量の低下を導くことにより組織の線維化を改善するための、請求項 26 記載の I 型コラーゲン遺伝子転写抑制組成物の使用。

15

28. 有効成分としての請求項 1 記載の 2-ピロン化合物と不活性担体とを含有することを特徴とする組織の線維化を改善させる組成物。

20

29. 組織の線維化を改善させる処置方法であって、そのような処置を必要とする哺乳動物患者に対して、有効量の請求項 1 記載の 2-ピロン化合物を投与することを特徴とする方法。

30. TGF- $\beta$ の作用を抑制するための、請求項1記載の2-ピロン化合物の使用。

31. 有効成分としての請求項1記載の2-ピロン化合物と不活性担体とを含有する  
5 ことを特徴とするTGF- $\beta$ の作用抑制組成物。

32. 毛髪の退行期への移行のTGF- $\beta$ による促進を阻害して毛髪成長期の延長を  
導くことにより養毛効果を得るための、請求項31記載のTGF- $\beta$ の作用抑制組成  
物の使用。

10

33. 有効成分としての請求項1記載の2-ピロン化合物と不活性担体とを含有する  
ことを特徴とする養毛組成物。

15

34. 養毛処置を必要とする哺乳動物患者に対して、有効量の請求項1記載の2-ピ  
ロン化合物を投与することを特徴とする養毛方法。

1/2

配列表

SEQUENCE LISTING

<110> Sumitomo Chemical Company Limited

<120> 2-Pyrone compound and use thereof

<130> 562072

<150> JP 2002/088574

<151> 2002-03-27

<150> JP 2002/088575

<151> 2002-03-27

<150> JP 2002/290843

<151> 2002-10-03

<160> 2

<210> 1

<211> 32

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Designed oligonucleotide primer to amplify collagen promoter DNA

<400> 1

2/2

ccaagctagc cgacgtgtcc catagtgttt cc 32

<210> 2

<211> 28

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Designed oligonucleotide primer to amplify collagen promoter DNA

<400> 2

ccaaaagctt gcagtcgtgg ccagtacc 28

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP03/03392

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl<sup>7</sup> C07D309/38, A61K31/366, A61P9/10, A61P9/12, A61P11/00,  
A61P13/12, A61P17/00, A61P17/02, A61P17/14, A61P29/00,  
A61P43/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl<sup>7</sup> C07D309/38, A61K31/366, A61P9/10, A61P9/12, A61P11/00,  
A61P13/12, A61P17/00, A61P17/02, A61P17/14, A61P29/00,  
A61P43/00

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

CAPLUS (STN), CAOLD (STN), REGISTRY (STN)

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	EP 841063 A1 (TORAY INDUSTRIES, INC.), 13 May, 1998 (13.05.98), Full text & WO 97/35565 A1 & AU 9720436 A & NO 9705439 A & CN 1194580 A & KR 99022058 A	1-24, 26, 28, 31, 33
A	DE 2728243 A (Henkel KGaA), 11 January, 1979 (11.01.79), Full text & BE 868398 A & AT 7804551 A & FR 2395025 A & NL 7806035 A & CH 634988 A	1-24, 26, 28, 31, 33

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.

\* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not  
considered to be of particular relevance  
"E" earlier document but published on or after the international filing  
date  
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is  
cited to establish the publication date of another citation or other  
special reason (as specified)  
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other  
means  
"P" document published prior to the international filing date but later  
than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or  
priority date and not in conflict with the application but cited to  
understand the principle or theory underlying the invention  
"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be  
considered novel or cannot be considered to involve an inventive  
step when the document is taken alone  
"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be  
considered to involve an inventive step when the document is  
combined with one or more other such documents, such  
combination being obvious to a person skilled in the art  
"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search  
05 June, 2003 (05.06.03)

Date of mailing of the international search report  
17 June, 2003 (17.06.03)

Name and mailing address of the ISA/  
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP03/03392

## C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	JP 41-1412 B (Research Institute For Production Development), 03 February, 1966 (03.02.66), Full text (Family: none)	1-24,26,28, 31,33
A	WO 01/79187 A2 (CYTOVIA, INC.), 25 October, 2001 (25.10.01), Full text & US 2002/0010169 A1 & AU 200193372 A	1-24,26,28, 31,33
A	RACHEDI Y. et al., SYNTHESIS OF 4-HYDROXY 6-METHYL 3- $\beta$ -ARYL PROPIONYL 2-PYRONES BY SELECTIVE CCATALYTIC HYDROGENATION OF 3-CINNAMOYL 4-HYDROXY 6-METHYL 2-PYRONES, Synthetic Communications, 1989, Vol.19, No.20, pages 3437 to 3442	1-24,26,28, 31,33
A	NAKATSUKASA, Harushige et al., Transforming Growth Factor- $\beta$ 1 and Type I Procollagen Transcripts during Regeneration and Early Fibrosis of Rat Liver, Laboratory Investigation, 1990, Vol.63, No.2, pages 171 to 180	1-24,26,28, 31,33
A	PELTONEN Juha et al., Evaluation of Transforming Growth Factor $\beta$ and Type I Procollagen Gene Expression in Fibrotic Skin Diseases by In Situ Hybridization, THE JOURNAL OF INVESTIGATIVE DERMATOLOGY, 1990, Vol.94, No.3, pages 365 to 371	1-24,26,28, 31,33
A	Varga John et al., Modulation of Collagen Gene Expression: Its Relation to Fibrosis in Systemic Sclerosis and Other Disorders, Annals of Internal Medicine, 1995, Vol.122, No.1, pages 60 to 62	1-24,26,28, 31,3
A	JP 2000-342296 A (Shiseido Co., Ltd.), 12 December, 2000 (12.12.00), Full text (Family: none)	1-24,26,28, 31,33



# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP03/03392

## Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.: 25, 27, 29, 30, 32, 34  
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:  
Claims 25, 27, 29, 30, 32 and 34 pertain to methods for treatment of the human body by therapy and thus relate to a subject matter which this International Searching Authority is not required to search.
2. ☐ Claims Nos.:  
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:  
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

## Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.  
☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

## A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl<sup>7</sup> C07D309/38, A61K31/366, A61P9/10, A61P9/12, A61P11/00, A61P13/12, A61P17/00, A61P17/02, A61P17/14, A61P29/00, A61P43/00

## B. 調査を行った分野

## 調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl<sup>7</sup> C07D309/38, A61K31/366, A61P9/10, A61P9/12, A61P11/00, A61P13/12, A61P17/00, A61P17/02, A61P17/14, A61P29/00, A61P43/00

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用了電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)  
CAPLUS (STN), CAOLD (STN), REGISTRY (STN)

## C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
A	EP 841063 A1 (TORAY INDUSTRIES, INC.) 1998. 05. 13, 全文 & WO 97/35565 A1 & AU 9720436 A & NO 9705439 A & CN 1194580 A & KR 99022058 A	1-24, 26, 28, 31, 33
A	DE 2728243 A (Henkel KGaA) 1979. 01. 11, 全文 & BE 868398 A & AT 7804551 A & FR 2395025 A & NL 7806035 A & CH 634988 A	1-24, 26, 28, 31, 33

☒ C欄の続きにも文献が列举されている。

☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

## \* 引用文献のカテゴリー

「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技术水準を示すもの  
「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの  
「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)  
「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献  
「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの  
「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの  
「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの  
「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

05.06.03

国際調査報告の発送日

17.06.03

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)

郵便番号100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

新 留 素 子

4 P

2939

電話番号 03-3581-1101 内線 3490

## 第Ⅰ欄 請求の範囲の一部の調査ができないときの意見 (第1ページの2の続き)

法第8条第3項 (PCT 17条(2)(a)) の規定により、この国際調査報告は次の理由により請求の範囲の一部について作成しなかった。

1. ☒ 請求の範囲 25, 27, 29, 30, 32, 34 は、この国際調査機関が調査をすることを要しない対象に係るものである。つまり、  
請求の範囲 25, 27, 29, 30, 32, 34 は、治療による人体の処置方法に関するものであって、この国際調査機関が調査をすることを要しない対象に係るものである。
2. ☐ 請求の範囲 \_\_\_\_\_ は、有意義な国際調査をすることができる程度まで所定の要件を満たしていない国際出願の部分に係るものである。つまり、
3. ☐ 請求の範囲 \_\_\_\_\_ は、従属請求の範囲であってPCT規則6.4(a)の第2文及び第3文の規定に従って記載されていない。

## 第Ⅱ欄 発明の単一性が欠如しているときの意見 (第1ページの3の続き)

次に述べるようにこの国際出願に二以上の発明があるとこの国際調査機関は認めた。

1. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料をすべて期間内に納付したので、この国際調査報告は、すべての調査可能な請求の範囲について作成した。
2. ☐ 追加調査手数料を要求するまでもなく、すべての調査可能な請求の範囲について調査することができたので、追加調査手数料の納付を求めなかった。
3. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を一部のみしか期間内に納付しなかったので、この国際調査報告は、手数料の納付のあった次の請求の範囲のみについて作成した。
4. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を期間内に納付しなかったので、この国際調査報告は、請求の範囲の最初に記載されている発明に係る次の請求の範囲について作成した。

追加調査手数料の異議の申立てに関する注意

- ☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがあった。
- ☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがなかった。

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
A	JP 41-1412 B (財団法人生産開発科学研究所) 1966. 02. 03, 全文 (ファミリーなし)	1-24, 26, 28, 31, 33
A	WO 01/79187 A2 (CYTOVIA, INC.) 2001. 10. 25, 全文 & US 2002/0010169 A1 & AU 200193372 A	1-24, 26, 28, 31, 33
A	RACHEDI Y. et al., SYNTHESIS OF 4-HYDROXY 6-METHYL 3- $\beta$ -ARYL PROPIONYL 2-PYRONES BY SELECTIVE CATALYTIC HYDROGENATION OF 3-CINNAMOYL 4-HYDROXY 6-METHYL 2-PYRONES, Synthetic Communications, 1989, Vol. 19, No. 20, pp. 3437-3442	1-24, 26, 28, 31, 33
A	NAKATSUKASA Harushige et al., Transforming Growth Factor- $\beta$ 1 and Type I Procollagen Transcripts during Regeneration and Early Fibrosis of Rat Liver, Laboratory Investigation, 1990, Vol. 63, No. 2, pp. 171-180	1-24, 26, 28, 31, 33
A	PELTONEN Juha et al., Evaluation of Transforming Growth Factor $\beta$ and Type I Procollagen Gene Expression in Fibrotic Skin Diseases by In Situ Hybridization, THE JOURNAL OF INVESTIGATIVE DERMATOLOGY, 1990, Vol. 94, No. 3, pp. 365-371	1-24, 26, 28, 31, 33
A	Varga John et al., Modulation of Collagen Gene Expression: Its Relation to Fibrosis in Systemic Sclerosis and Other Disorders, Annals of Internal Medicine, 1995, Vol. 122, No. 1, pp. 60-62	1-24, 26, 28, 31, 33
A	JP 2000-342296 A (株式会社資生堂) 2000. 12. 12, 全文 (ファミリーなし)	1-24, 26, 28, 31, 33